

EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE LUZES SOBRE A MORFOGÊNESE IN VITRO E SÍNTESE DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM MOSQUITINHO

JULIA MELO ARIMA PERRI¹, JAQUELINE PEREIRA DA ROSA²; VANESSA ROCHA DA SILVA³; SIMONE RIBEIRO LUCHO⁴; VALMOR JOÃO BIANCHI⁵

¹Graduanda de Agronomia - UFPel, bolsista PIBIC-CNPq – julia.mello812@gmail.com

²Graduanda de Agronomia - UFPel – jaqueline-pr@hotmail.com

³Graduanda de Agronomia - UFPel, bolsista PIBIC-CNPq – vanessa_rocha88@hotmail.com

⁴Pós-Doutoranda do PPG Fisiologia Vegetal – DB-IB-UFPel – simonibelmonte@gmail.com

⁵Professor Associado III – DB-IB-UFPel – valmorjb@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

Flores proporcionam efeito decorativo, propiciando beleza e harmonia a diferentes ambientes, e seu cultivo é uma atividade que vem se tornando essencial para a economia no mundo. Entre as flores de corte, a *Gypsophila paniculata* L. conhecida popularmente como “mosquitinho”, tem apresentado um crescimento vertiginoso no mercado brasileiro. No entanto, a propagação convencional desta espécie é indesejável devido ao alto custo das sementes e porque gera plantas geneticamente segregantes, reduzindo a qualidade e o valor comercial (BOSA et al., 2003). Nesse sentido, o cultivo in vitro apresenta-se como uma alternativa para a rápida propagação clonal desta espécie.

No cultivo in vitro, além dos fatores químicos e físicos de dentro do frasco, os fatores ambientais, como temperatura e luz, são fundamentais. A qualidade da luz, quantidade e duração (fotoperíodo) fornecida afetam as respostas morfogenéticas, uma vez que regulam a fotomorfogênese, a produção de energia pela fotossíntese e processos fisiológicos, como a produção de metabólitos secundários (OLLE; VIRSILE, 2013). O uso das lâmpadas artificiais, como as fluorescentes (FLUO), tem sido comumente utilizada na cultura in vitro, pois emitem fôtons em ampla faixa espectral. No entanto, este tipo de lâmpada apresenta um maior consumo de energia elétrica, comparativamente à lâmpada de diodo emissor de luz (LED) (GUPTA; JATOTHU, 2013).

Com o avanço da tecnologia e a redução dos preços das lâmpadas LED, há uma tendência em substituir as lâmpadas fluorescentes, pois aliado as vantagens econômicas, existem diversos estudos que mostram mais vigor nas plantas cultivadas in vitro sob condições de iluminação LED (BATISTA et al., 2018). Adicionalmente, estudos como estes, são fundamentais para aprimorar a eficiência do setor produtivo, reduzindo os custos e os espaços para produção. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de duas fontes de luzes (LED branco e FLUO) sobre a morfogênese in vitro e síntese de pigmentos fotossintéticos em *Gypsophila paniculata* L. cultivadas in vitro por 40 dias.

2. METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas. O material vegetal utilizado no experimento foram explantes obtidos de plantas de *G. paniculata* micropropagadas em nosso laboratório. O meio de cultivo utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), contendo sacarose (30 g L^{-1}), ágar (7 g L^{-1}), com pH 5,2 e, suplementado com $0,7\text{ mg L}^{-1}$ de BAP. Após a inoculação, metade dos frascos foram transferidos para a sala de crescimento, com temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo luminoso

de 50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (lâmpadas FLUO) e a outra metade para a mesma temperatura e fotoperíodo descritos anteriormente, porém na densidade de fluxo luminoso de 180 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (lâmpadas LED). Após 40 dias de cultivo in vitro, foram avaliados o número de brotos e folhas, assim como o comprimento da maior folha do explante, número e tamanho de raízes, altura dos explantes e massa fresca e seca da parte aérea e sistema radicular. Os conteúdos dos pigmentos fotossintéticos foram extraídos e mensurados conforme descrito por López-Orenes et al. (2013). As seguintes equações foram usadas para o cálculo da concentração de cada pigmento: Chl a= $(15,65^* \text{Abs}^{666}) - (7,34^*\text{Abs}^{653})$; Chl b= $(27,05^* \text{Abs}^{653}) - (11,21^* \text{Abs}^{666})$ e Carotenoides= $((1000^*\text{Abs}^{470}) - (2,86^*\text{Chl a}) - (129,02^* \text{Chl b})/245$, os dados são apresentados em μmol de composto por g^{-1} de massa seca. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos (Fontes de luz) e cinco repetições por tratamento. Cada repetição constou de um frasco (unidade experimental) contendo cinco explantes. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foi aplicado o teste Tukey ($P<0.05$), utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A luz é um dos fatores mais influentes para as plantas cultivadas in vitro, porque é responsável por desencadear uma série de processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento dos propágulos. No entanto, as respostas dependem não apenas da ausência ou presença de luz, mas também da fonte luminosa. De acordo com a análise de variância os resultados evidenciaram diferenças ($P<0,05$) entre as lâmpadas FLUO e LED para as respostas morfogênicas (Tabela 1) e síntese de pigmentos fotossintéticos (Tabela 2).

Tabela 1 - Efeito de diferentes fontes de luz sobre a morfogênese in vitro de *Gypsophila paniculata* L. cultivadas in vitro por 40 dias.

Parâmetros de crescimento	Fontes de luz	
	FLUO	LED
Número de brotos*	5,52±0,21a	3,08±0,06b
Altura (cm)*	10,88±0,30a	7,82±0,11b
Número de folhas*	86,92±1,07a	74,76±1,63b
Comprimento maior folha (cm)*	2,57±0,03b	3,25±0,02a
Número de raízes*	5,68±0,29b	13,68±0,25a
Massa fresca Raiz	2,83±0,14b	4,22±0,15a
Massa seca PA (g)	0,39±0,01b	0,61±0,02a
Massa seca Raiz	0,15±0,00b	0,21±0,00a

* Por explante inicial

Os valores representam média ± desvio padrão de 5 repetições.

Os valores médios dentro de uma linha que compartilham letras diferentes indicam diferenças estatísticas com base na ANOVA seguida pelo teste de Tukey $P\leq 0,05$.

Os maiores valores médios de brotos foram observados nas plantas cultivadas in vitro sob lâmpadas fluorescentes, atingindo valores de 5,52±0,21 brotos/explante. Segundo Manivannan et al. (2017) o uso de lâmpadas LEDs pode ser uma ferramenta eficaz para otimizar as taxas de multiplicação das brotações, entretanto neste estudo as melhores taxas foram observadas nas plântulas cultivadas em luz FLUO. Estes resultados mostram que os efeitos das diferentes fontes de luzes, variam de acordo com a espécie, mostrando que nem sempre as luzes LED são mais eficientes.

Da mesma forma, que o número de brotos, o número de folhas também apresentou os maiores valores médios nas plantas cultivadas sob lâmpadas FLUO, resultando em $86,92 \pm 1,07$ folhas/explante. Por outro lado, estas folhas eram pequenas e finas quando comparadas com as folhas das plântulas cultivadas em luz de LED, que nesta fonte de luz atingiram $3,25 \pm 0,02$ cm de comprimento. Notadamente, as lâmpadas LED apresentaram efeito mais pronunciado no sistema radicular, produzindo mais que o dobro do número de raízes o que resultou em um maior acúmulo de massa fresca e seca de raízes, quando comparadas as lâmpadas FLUO. Adicionalmente a estes resultados, não foram verificadas diferenças para a massa fresca da parte aérea entre os tratamentos. E isso deve-se ao tipo de resposta morfogênica, pois embora as plântulas cultivadas em luz LED apresentassem menor número de brotos adventícios, quando comparadas as das lâmpadas FLUO, suas folhas eram longas e espessas.

As diferentes fontes de luzes regulam a anatomia das folhas, a expansão foliar e a biossíntese de pigmentos (SEILER et al. 2017). Esta regulação é feita através da ativação seletiva de diferentes fotorreceptores, expressão de genes e de fatores de transcrição (BOU-TORRENT et al., 2015). Contudo, o excesso de intensidade luminosa em plantas in vitro pode ser percebido visualmente, através do branqueamento ou amarelecimento das folhas, possivelmente por efeito fotooxidativo. Neste estudo, as plântulas cultivadas sob luz de LED apresentavam folhas claras, longas e de tamanho e formato irregular. Além disso, as plântulas estavam bastante heterogêneas, e com evidências morfológicas de variação somaclonal (Figura 1).

Diante dessas diferenças visuais, principalmente no que se refere a morfologia foliar, o conteúdo de pigmentos fotossintéticos (Chl a, Chl b e carotenoides) foi mensurado. De acordo com os resultados obtidos não foram verificadas diferenças entre os tratamentos, exceto para Clorofila b, onde os níveis chegaram a $934,62 \pm 0,34 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca nas folhas das plantas cultivadas em luz FLUO (Tabela 2). De acordo com Singh et al. (2017) as plantas também respondem ao estresse luminoso reduzindo os níveis de clorofila e acumulando antocianinas. E isso pode explicar em parte, os menores níveis de clorofila b em plântulas cultivadas em luz de LED, possivelmente as plântulas deste tratamento estavam passando por estresse luminoso. Em contraste aos nossos resultados, plantas de *Withania somnifera* apresentaram maior teor de Clorofila b quando cultivadas em lâmpadas LED (LEE et al. 2007).

Tabela 2 - Efeito de diferentes fontes de luzes sobre a síntese de pigmentos fotossintéticos de *Gypsophila paniculata* L. cultivadas in vitro por 40 dias.

Pigmentos fotossintéticos	Clorofila b		Clorofila a	Carotenoides
Fontes de Luz	FLUO	LED		
	$934,62 \pm 0,34$ a	$645,55 \pm 0,30$ b	$981,00 \pm 0,30^*$	$343,18 \pm 0,30^*$
CV (%)	8,86		23,12	24,47
Valor-P (>F)	0,00		0,84	0,68

*Não significativo.

Os valores representam média \pm desvio padrão de 5 repetições.

Os valores médios dentro de uma linha que compartilham letras diferentes indicam diferenças estatísticas com base na ANOVA seguida pelo teste de Tukey $P \leq 0,05$.

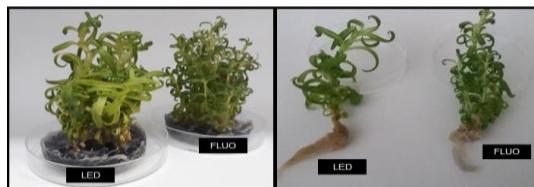


Figura 1 - Morfogênese in vitro de *Gypsophila paniculata* L.

4. CONCLUSÕES

As plântulas de *G. paniculata* cultivadas sob luz FLUO apresentaram o maior número de características essenciais para a propagação in vitro e posterior sobrevivência no ambiente ex vitro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, D.S.; SOUSA, S.H.; CASTRO, K.M.; MAMEDES-RODRIGUES, T.C.; MIRANDA, A.M.; OTONI, W.C. Light quality in plant tissue culture: does it matter? **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.54, p.195-215, 2018.
- BOSA, N.; CALVETE, E.O.; BORDIGNON, L. Avaliação do crescimento de *Gypsophila paniculata* durante o enraizamento in vitro. **Horticultura Brasileira**, v.21, p.510-513, 2003.
- BOU-TORRENT, J.; TOLEDO-ORTIZ, G.; MARTINEZ-GARCÍA, J.F. Regulation of carotenoid biosynthesis by shade relies on specific subsets of antagonistic transcription factors and cofactors. **Plant Physiology**, v.169, p.1584-1594, 2015.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.
- GUPTA, S. D.; JATOTHU, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis. **Plant biotechnology reports**, v.7, p.211-220, 2013.
- LI, H.; XU, Z.; TANG, C. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.103, p.155-163, 2010.
- LÓPEZ-ORENES, A.; FERRER, M.A.; CALDERÓN, A.A. Antioxidant capacity as a marker for assessing the in vitro performance of the endangered *Cistus heterophyllus*. **Science World Journal**, 2013.
- MANIVANNAN, A.; PRABAJAHRAN, G.; RYONG, J. Blue and red light-emitting diodes improve the growth and physiology of in vitro-grown carnations 'Green Beauty' and 'Purple Beauty'. **Horticulture Environment Biotechnology**, v.58, p.12–20, 2017.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biomassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.
- OLLE, M.; VIRSILE, A. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. **Agricultural and Food Science**, v.22, p.223-234, 2013.
- LEE, A.E.; TEWARI, R.K.; PAEK, K.Y. Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania somnifera* (L.). **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v.90, p.141-151, 2007.
- SEILER, F.; SOLL, J.; BÖLTER, B. Comparative phenotypical and molecular analyses of *Arabidopsis* grown under fluorescent and LED light. **Plants**, v.6, p.24-36, 2017.
- SINGH, A.S.; JONES, A.M.P.; SHUKLA, M.R.; SAXENA, P.K. High light intensity stress as the limiting factor in micropropagation of sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.). **Plant Cell, Tissue Organ Culture**, v.129, p.209–221, 2017.