

## Luz natural e sistemas de vedação na propagação *in vitro* de *Dendranthema grandiflora* TZVELEV cv. Rage.

Braga, Francyane Tavares<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>3</sup>; Dignart, Samantha Lea<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Fitotecnia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323, e-mail: [ftbraga@yahoo.com.br](mailto:ftbraga@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Agricultura (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323; <sup>3</sup> Professor do Departamento de Biologia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1612; <sup>4</sup> Mestre em Agronomia Fisiologia Vegetal (UFLA-MG).

### INTRODUÇÃO

Planta cultivada pela beleza de suas inflorescências, o crisântemo tem grande valor comercial por ser uma das culturas ornamentais de maior aceitação no mercado. O uso das técnicas de cultivo *in vitro* tem sido aceito em numerosas áreas da agricultura comercial, especialmente com ornamentais, para a obtenção de plantas matrizes. A cultura de tecidos tem sido utilizada para a propagação comercial de crisântemo, buscando plantas livres de vírus e homogêneas. Devido aos altos custos de produção por meio da micropropagação convencional, relacionados à perda durante a aclimatização e ao alto consumo de energia elétrica em salas de crescimento tem-se buscado meios alternativos de propagação *in vitro* menos onerosas e mais próximas ao ambiente natural.

O sistema de propagação *in vitro* fotoautotrófica representa um tipo de cultivo caracterizado por fornecer condições ambientais, com aumento na disponibilidade de CO<sub>2</sub> e nos níveis de radiação, bem como redução na umidade relativa dentro dos frascos, induzindo a fotossíntese e conferindo capacidade de crescimento e multiplicação das plantas em meios sem ou com reduzida suplementação orgânica.

Algumas técnicas e metodologias têm sido desenvolvidas com o objetivo de fornecer condições ambientais que promovam a capacidade fotossintética do material micropropagado e favoreçam a aquisição de fotoautotrofia *in vitro*. As principais são: utilização de filtros de membranas com microporos permeáveis a gases, os quais promovem aumento na transferência de gases entre o recipiente de cultivo e o ambiente externo, sendo a atmosfera ao redor do recipiente mantida sob concentrações normais de CO<sub>2</sub> (sistema de ventilação natural) ou enriquecida com CO<sub>2</sub> (sistema de ventilação forçado) e a utilização de maior densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) por meio da iluminação natural.

Em diversas espécies tem sido demonstrado que a micropropagação fotoautotrófica, ou seja, na ausência de sacarose, tem apresentado algumas vantagens, quando comparada aos sistemas convencionais de micropropagação. Isso porque, promove maior crescimento e desenvolvimento *in vitro*, diminuindo o nível de contaminação; simplifica os meios de cultura, uma vez que permite a retirada de certos reguladores de crescimento e compostos orgânicos e promove rápido e vigoroso desenvolvimento das plantas durante a aclimatização.

Porém a eliminação total de uma fonte de carbono ao meio deve ser questionada em algumas situações, uma vez que o processo de hiper-hidricidade ou vitrificação pode ser provocado em função do baixo potencial hídrico do meio de cultura, disponibilizando mais facilmente água para os explantes.

Diante dessas considerações, o presente estudo teve como objetivo avaliar sistemas de vedação dos recipientes e ambiente de cultivo na propagação *in vitro* de crisântemo cv. Rage.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado constituiu-se de propágulos de crisântemo cv. Rage, já estabelecidas *in vitro*, dos quais foram retirados segmentos nodais contendo uma gema e inoculados em meio MS com adição de 15g L<sup>-1</sup> de sacarose e 5g L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação sob sombrite 50%, sendo os frascos colocados diretamente sobre bancadas e em frascos mantidos em sala de crescimento convencional, com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25<sup>±20</sup>C, com intensidade de 52,5 W.m<sup>-2</sup> fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

Os frascos foram vedados com tampas convencionais de polipropileno e tampas com sistema de vedação com ventilação natural, e protegidos com filtro antifungo que permite trocas gasosas dentro dos recipientes, provenientes do fabricante Samavidros® (Figura 1).

A intensidade da radiação foi mensurada por meio de sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb), sendo as avaliações realizadas durante 30 dias.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x2 e delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições compostas por um frasco contendo cinco segmentos nodais cada frasco.

Após 60 dias de cultivo, foram avaliadas: número de folhas (NF), raízes (NR) e brotações (NB) por propágulo, comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5%.



Figura 1. Sistema de vedação: ventilado (A) e convencional (B).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O valor médio de radiação recebida no ambiente casa de vegetação durante os 30 dias avaliados foi de 1,15 MJ.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>.

Não houve interação entre os fatores ambiente de cultivo e o sistema de vedação para todas as variáveis fitotécnicas analisadas (Tabela 1).

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos do fator ambiente de cultivo, com exceção para o número de brotações, sendo o melhor resultado obtido em casa de vegetação.

Tabela 1. Dados fitotécnicos de plantas de crisântemo cv. Rage, cultivados *in vitro* em diferentes ambientes e diferentes sistemas de vedação. NF=número de folhas; CPA = comprimento de parte aérea; NR= número de raízes; CR = comprimento de raízes e NB= número de brotações.

| Luz                | NF     | CPA (cm) | NR     | CR (cm) | NB    |
|--------------------|--------|----------|--------|---------|-------|
| CV                 | 27,85a | 7,36a    | 15,32a | 13,57a  | 2,62a |
| SC                 | 20,32b | 6,21b    | 11,27b | 10,11b  | 2,27a |
| Vedação            | NF     | CPA (cm) | NR     | CR (cm) | NB    |
| Ventilação natural | 26,55a | 6,92a    | 13,95a | 10,99b  | 2,57a |
| Convencional       | 21,62b | 6,61a    | 12,65a | 12,68a  | 2,32a |

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Quanto ao sistema de vedação, houve diferenças significativas apenas para as variáveis: número de folhas e comprimento de raízes, com os melhores resultados observados no sistema de ventilação natural e convencional, respectivamente. Para as demais variáveis, embora sem diferença significativa, o sistema de ventilação natural apresentou maiores médias.

Trabalhando com *Brassica oleracea*, Kanechi & Ochi (1998) avaliaram diferentes condições de cultivo *in vitro*, fotomixotrófica e fotoautotrófica. No primeiro caso, foram utilizados diferentes níveis de irradiação, sistema de vedação ventilado com filtro de membranas nas tampas e enriquecimento com CO<sub>2</sub> nos frascos, tendo o meio de cultura sido suplementado com 2% de sacarose. Já no segundo caso foram utilizadas as mesmas condições de cultivo, porém, sem suplementação de sacarose ao meio. Observou-se que baixas intensidades de irradiação e sistema de vedação ventilado, promoveram maior área foliar, bem como maiores massas de raízes e brotos nos propágulos em condições fotomixotróficas. Em condições fotoautotróficas, os melhores resultados também foram observados em condições de cultivo sob baixa irradiação e sistema de vedação ventilado, porém, quando comparados os resultados, verificou-se maior massa em brotos e raízes cultivadas em condições fotomixotróficas, mostrando a necessidade de uma fonte extra de carboidrato.

A ventilação natural é importante durante o processo de enraizamento *in vitro*, principalmente para subsequente adaptação das plantas durante o processo de aclimatização (Kubota & Kozai, 1992).

Para a realização da fotossíntese, é necessário obter energia por meio de uma fonte de carbono para que ocorra crescimento fotoautotrófico. O carbono fixado pelas folhas desenvolvidas *in vitro* em meios sem adição extra de sacarose é insuficiente para que ocorra um crescimento autotrófico, principalmente após transferência para aclimatização, sendo necessária uma adição desse carboidrato ao meio de cultura (Preece & Sutter, 1991).

Nguyen et al. (2001) avaliaram diferentes níveis de irradiação (baixo e alto) e condições de ventilação no frasco (baixo e alto) em cultivo *in vitro* de *Coffea arabusta* e verificaram que maior ventilação nos frascos, independente dos níveis de irradiação, promoveu maiores pesos de matéria seca, maior área foliar e comprimento de parte aérea.

O aumento dos níveis de irradiação durante o crescimento *in vitro* e a concentração de CO<sub>2</sub> no interior dos frascos, é um fator crítico para promover altas taxas fotossintéticas em plantas cultivadas em condições fotoautotróficas.

Da mesma forma que os demais trabalhos relatados e os resultados apresentados neste trabalho. Arigita et al. (2002), trabalhando com *Actinidia deliciosa*, obtiveram maior número de folhas e brotos e maior comprimento de parte aérea, em condições de incubação com maiores concentrações de CO<sub>2</sub> no interior do frasco e condições fotomixotróficas, ou seja, com adição de baixas concentrações de sacarose ao meio.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que o uso de luz natural foi eficiente na morfogênese *in vitro* de crisântemo e o uso de sistema de ventilação natural são eficazes na maioria das variáveis analisadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIGITA, L.; GONZALES, A.; TAMES, R.S. Influence of CO<sub>2</sub> and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured in vitro. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.115, p.166-173, 2002.

KANECHI, M.; OCHI, M. The effects of carbon dioxide enrichment, natural ventilation, and light intensity on growth, photosynthesis, and transpiration of cauliflower plantlets cultured in vitro photoautotrophically and photomixotrophically. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n.2, p.176-181, 1998.

KUBOTA, C.; KOZAI, T. Growth and net photosynthetic rate of *Solanum tuberosum* in vitro under forced and natural ventilation. **HortScience**, v.27, p.1312-1314, 1992.

NGUYEN, Q.T. et al. Photoautotrophic growth response of in vitro cultured coffee plantlets to ventilation methods and photosynthetic photon fluxes under carbon dioxide enriched condition. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.66, p.217-225, 2001.

PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In. DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p.71-93.

PALAVRAS-CHAVE

Crisântemo; ambiente de cultivo; fotoautotrófica; ventilação natural.