

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

Braga, Franciane Tavares¹; Pasqual, Moacir²; Castro, Evaristo Mauro de³; Dignart, Samantha Lea⁴.

¹Doutoranda 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; ² Professor do Departamento de Agricultura (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323; ³ Professor do Departamento de Biologia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1612; ⁴ 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 CO₂ 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 CO₂ (sistema de ventilação natural) ou enriquecida com CO₂ (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⁻¹ de sacarose e 5g L⁻¹ 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^{±20}C, com intensidade de 52,5 W.m⁻² 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⁻².dia⁻¹.

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 CO₂ 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 CO₂ 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 CO₂ 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 CO₂ 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.