

Teores de clorofila de plantas de *Annona glabra* L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos.

Moreira, Cleilton Vasconcelos¹; Soares, Ângela Maria²; Silva, Luciano Coutinho³; Barbosa, João Paulo Rodrigues Alves Delfino⁴; Deccetti, Soami Fernanda Caio⁵; Paiva, Renato⁶.

¹Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: kleilton@yahoo.com.br; ²Professora do Depto. Biologia (UFLA); ³Graduando em Agronomia, bolsista de Iniciação Científica FAPEMIG; ⁴Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA); ⁵Doutora Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA); ⁶Professor Associado do Depto. Biologia (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: renpaiva@ufla.br.

INTRODUÇÃO

A *Annona glabra* L., natural da América do Sul (Le et al., 1998), produz frutos comestíveis e é também utilizada, segundo como porta-enxerto para a Atemoleira, Graviroleira e Cherimoleira, algumas das frutas mais consumidas do gênero *Annona* (Manica et al., 2003). A espécie possui capacidade de adaptação a diversos ambientes, com habilidade de sobrevivência em extremos de temperatura (Sentellas et al. 1996; Mai, 1995) e habitat inundado (Pérez et al., 1993; Croat, 1978), indicando capacidade de adaptação estrutural e funcional ao ambiente.

A maior ou menor plasticidade adaptativa das espécies às diferentes condições de radiação depende do ajuste de seu aparelho fotossintético, de modo a garantir maior eficiência na conversão da energia radiante em carboidratos e, conseqüentemente, maior crescimento. O conteúdo de pigmentos cloroplásticos, especialmente as clorofilas, está relacionado a esse comportamento funcional da folhas em otimizar a assimilação de CO₂ à disponibilidade de radiação, água e nutrientes.

Desse modo, o objetivo desse trabalho foi o de utilizar o conteúdo de clorofilas como uma variável fisiológica indicativa da adaptação do aparelho fotossintético e de fotoautotrofia de plantas de *A. glabra* micropropagadas sob diferentes ambientes de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas localizado no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizados como explantes primários para a micropropagação (fase de multiplicação) segmentos nodais contendo apenas uma gema e tamanho aproximado de 1,5 a 2,0 cm, derivados de plantas matrizes mantidas sob condições controladas em sala de crescimento (Figura1A).

Para a desinfestação, os explantes foram mantidos em água corrente por 40 minutos e lavados com detergente. A seguir, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70% (v/v) por um minuto, em associação com a imersão em hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 15 minutos e lavados por três vezes em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, os explantes foram mantidos em solução de ácido ascórbico (200 mg L⁻¹) por 20 minutos. Os segmentos nodais foram inoculados em frascos contendo 30 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 7,0 g L⁻¹ de ágar e suplementado com 20,0 g L⁻¹ de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,0 antes da autoclavagem. Após a inoculação, os frascos foram colocados no escuro por um período de 15 dias. Após esse período, os frascos foram levados aos seus ambientes de cultivo, onde permaneceram por mais 30 dias, totalizando então 45 dias de cultivo *in vitro* antes das análises teores de clorofila.

Foram utilizados dois sistemas de vedação dos frascos e dois ambientes de cultivo: frascos vedados com tampas plásticas transparentes e selamento com parafilme, que restringem as trocas de gases entre o recipiente e a atmosfera externa caracterizando sistema convencional (Figura1B) e tampas plásticas modificadas, contendo um par de

orifícios (10 mm de diâmetro) cobertos por dois filtros de membranas permeáveis a gases (Milliseal, Millipore, Tokyo) (Figura1C) com poros de 0,5 μm , que aumentam a ventilação no recipiente de cultivo. Os frascos com as brotações foram mantidos em dois ambientes: sala de crescimento (Figura1D) sob condições de alta irradiância ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e em casa de vegetação (Figura1E), sob iluminação e temperatura natural. Na casa de vegetação, os frascos foram mantidos sobre uma bancada aberta, a cerca de 1,5 m de altura, e sob tela sombrite que permite uma interceptação de 70% da luz solar incidente.

O ambiente da casa de vegetação foi caracterizado por um piranômetro acoplado a um datalogger (LI – 1400 – LI-COR, Lincoln. Neb.) e por um termohigrógrafo durante uma semana em março e uma semana em maio de 2006. Os valores médios observados das características avaliadas foram: temperatura máxima de $36^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$, temperatura mínima de $26^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar máxima de $59\% + 8\%$ e mínima de $35\% + 8\%$. A radiação global média, na altura do recipiente de cultivo, foi de $520 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

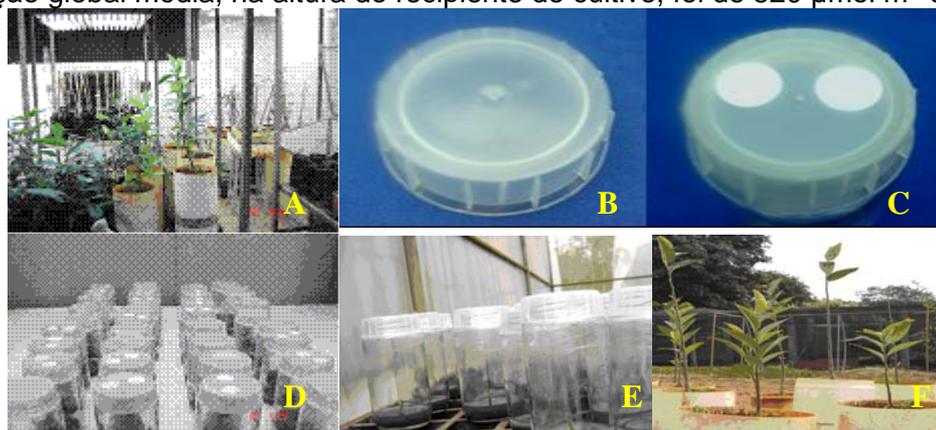


Figura 1. Plantas matrizes em sala de crescimento (A), tampa plástica convencional (B), tampa plástica com Millipore com ventilação natural (C), frascos em sala de crescimento (D) e frascos em casa de vegetação (E), plantas a pleno sol (F).

Para quantificar os teores de clorofila, foram utilizadas três amostras de 100 mg de tecido foliar fresco para cada ambiente de cultivo. As concentrações de clorofila a, b e total foram determinadas de acordo com o método de Arnon (1949), após a obtenção dos dados de absorvância com base nas leituras em espectrofotômetro a 663 e 645 nm.

Os experimentos, instalados em delineamento inteiramente casualizado, foram constituídos por seis tratamentos de cultivo *in vitro*, num fatorial de dois (ambientes: sala de crescimento e casa de vegetação) x dois (sistemas de vedação do recipiente de cultivo), sendo que as plantas a pleno sol e as plantas matrizes foram tratamentos adicionais, tidos como testemunhas.

O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias pelo Teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os maiores teores de clorofila ao final da fase de multiplicação foram observados sob ventilação natural (Millipore) e em casa de vegetação. De maneira geral, o conteúdo de clorofila das brotações sob essas condições ambientais é semelhante aos valores observados para as plantas *in vivo* (Tabela 1). A síntese de clorofilas parece ser prejudicada em condições *in vitro*, já em as plantas *in vivo* apresentam maiores teores de clorofilas a, b e total, especialmente as plantas matrizes, mantidas em sala de crescimento, que apresentou valores significativamente maiores ($P < 0,05$) que as plantas a pleno sol. O maior teor de clorofila total nas folhas sob baixa irradiância constitui uma resposta freqüentemente observada, visto que sob essa condição, a planta investe mais assimilados no complexo

proteína-clorofila do aparelho fotossintético para otimizar a captação de luz (Amâncio et al., 1999).

Tabela 1. Teores médios de clorofila a, b, total (a + b) e razão de clorofila a/b em folhas de *Annona glabra* L. desenvolvidas durante o período de multiplicação sob sistema convencional de vedação do recipiente de cultivo ou ventilação natural e em sala de crescimento ou em casa de vegetação.

Ambiente de Cultivo	Teor de clorofila (mg g ⁻¹ MF)*			
	Clorofila a	Clorofila b	Total (a + b)	a/b
Sala de Crescimento				
Convencional	0,72 a	0,38 a	1,10 a	1,90 a
Natural	0,60 a	0,31 a	0,91 a	2,12 a
Casa de Vegetação				
Convencional	0,74 a	0,52 a	1,26 a	1,90 a
Natural	1,73 b	1,04 b	2,77 b	1,66 a
<i>In vivo</i>				
Matriz	2,79 c	1,32 b	4,11 c	2,13 a
Pleno Sol	1,73 b	1,03 b	2,77 b	1,71 a

*Os valores representam a média de três repetições. As médias dentro da coluna seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os resultados observados para os teores de clorofila estão de acordo com observações feitas para o potencial fotossintético de plantas de *A. glabra* cultivadas nas mesmas condições ambientais, confirmando a maior funcionalidade do aparelho fotossintetizante de plantas cultivadas em ambiente caracterizado por elevada irradiância e ventilação natural, o que pode evidenciar o teor de clorofila como uma variável fisiológica indicadora de plasticidade fisiológica.

A relação clorofila a/b não apresentou diferença entre os tratamentos, apesar da diferença observada nos teores de clorofila a, b e total. Similar padrão de mudanças na clorofila total e a ausência de um efeito claro das condições de cultivo sobre a razão clorofila a/b, também foram reportados em plantas de *Gardenia jasminoides* (Serret et al., 1996) e *Chrysanthemum* (Cristea et al., 1999) que se desenvolvem *in vitro*, respectivamente, sob diferentes regimes de luz e diferentes concentrações de CO₂.

CONCLUSÃO

O cultivo *in vitro* sob ventilação natural (Millipore) em casa de vegetação, proporciona uma maior biossíntese de clorofila a, b e total.

A elevada irradiância associada ao sistema de ventilação natural (Millipore), condiciona a uma maior funcionalidade do aparelho fotossintetizante.

REFEÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMÂNCIO, S.; REBORDÃO, J.P.; CHAVES, M.M. Improvement of acclimatization of micropropagated grapevine: photosynthetic competence and carbon allocation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.58, p.31-37, 1999.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v.24, p.1-15, 1949.

CRISTEA, V.; VECCHIA, F.D.; ROCCA, N.L. Developmental and photosynthetic characteristics of a photoautotrophic Chrysanthemum culture. *Photosynthetica*, Prague, v.37, n.1, p.53-59, 1999.

CROAT, T. **Flora of Barro Colorado Island**. Stanford University Press, Stanford, CA, 943p., 1978.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.3 – **Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

LE, H.T.; HANCOCK, J.F.; TRINH, T.T. The fruit crops of Vietnam: introduced species and their native relatives. **Fruit Varieties Journal**. v.52, n.3, p. 158-168, 1998.

MAI, T.T. Fruit trees in Vietnam. **Chronica Horticulturae**, v.35. n.3, p. 8-9, 1995.

MANICA, I.; ICUMA, I.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JUNIOR, M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre, Cinco continentes Editora, 2003. 596p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p. 473-497, 1962.

PÉREZ, N.D.; FONSECA, R.M.; PÉREZ, L.L.; HERNANDEZ, F.L. Vegetacion de las lagunas costeras y zonas inundables del Estado de Guerrero, Mexico. **Brenesia**, v. 39-40, p. 7-28, 1993.

SENTELHAS, P.C.; PÍZA, C.T.J.; SIGRISTI, J.M.M.; KAVATI, R.; PARODI, M.T. Temperatura letal de diferentes plantas frutíferas tropicais. **Bragantia**, Campinas, v.55, n.2, p. 231-235, 1996.

SERRET, M.D.; TRILLAS, M.I.; MATAS, J.; ARAUS, J.L. The effect of different closure types, light and sucrose concentrations on Carbon isotope composition and growth of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation and subsequent acclimation ex vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.47, n.3, p. 217-230, 1997.

PALAVRAS-CHAVES

Annona glabra L., resposta fotossintética, ambientes de cultivo, vedação.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG¹ pela concessão de bolsa de Iniciação Científica e ao financiamento de pesquisa.

¹ Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.