

Multiplicação *in vitro* de brotações de batata cv. Macaca sob diferentes intensidades luminosas

Rocha, P.S.G¹., Bonafin, T.Z², Ambros, G.G³, Mosele, S.H⁴, Teixeira, A.J⁵

1Eng^o. Agr^o, Dr., Professor do Curso de Agronomia, URI Erechim, e-mail: rocha@uricer.edu.br

2. Acadêmico do Curso de Agronomia, URI Erechim, e-mail: thiagozbonafin@gmail.com

3. Acadêmica do Curso de Agronomia, URI Erechim, e-mail: gabrielaambross@gmail.com

4. Eng^o. Agr^o, M.Sc., Professor do Curso de Agronomia, URI Erechim, e-mail: m.sergio@uricer.edu.br

5. Zootecnista, Dr., Professor do Curso de Agronomia, URI Erechim, e-mail: amito@uricer.edu.br

RESUMO: Os diodos emissores de luz (LED's) são considerados uma promissora fonte de luz para o cultivo *in vitro* de plantas, por apresentarem uma longa lista de benefícios e afetarem positivamente o crescimento dos explantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes intensidades de luz com LED's no cultivo *in vitro* de brotações de batata cultivar Macaca. Os tratamentos foram constituídos por diferentes intensidades de fluxo de fótons: 25; 50; 75 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecidas por lâmpadas constituídas por 80% de LED's vermelhos e 20% de LED's azuis. O delineamento experimental usado foi inteiramente ao acaso com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por um frasco de vidro com contendo 40 mL de meio de cultura MS com cinco explantes. Após 35 dias de cultivo foi avaliado a altura da brotação, número de folhas, número de entrenós e número de gemas por brotação. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade de erro. Foi observado que intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ contribuiu para a obtenção da maior altura e número de folhas e gemas formadas por brotação.

Palavras-chave: *Explante, Micropropagação, LED's, Qualidade da luz*

In vitro multiplication of shoot of potato cv. Macaca under different light intensities

Abstract: Light emitting diodes (LED's) are considered the newest and most promising light source for *in vitro* plant cultivation, as they have a long list of benefits and positively affect explant growth. The objective of this work was to evaluate different light intensities with LED's in the *in vitro* cultivation of shoot of potato cultivar Macaca. The treatments consisted of different photon flux intensities: 25; 50; 75 and 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, supplied by lamps made up of 80% red LEDs and 20% blue LEDs. The experimental design used was completely randomized with five replications, and the experimental unit consisted of a glass flask containing 40 mL of MS culture medium with five explants. After 35 days of cultivation, the height of shoot, number of leaves, number of internodes and number of buds per sprouting were evaluated. The data obtained were subjected to analysis of variance, and the means were compared by Duncan's test at a level of 5% probability of error. It was observed that light intensity of 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ contributed to obtain the greatest height and number of leaves and buds formed by budding.

Keywords: *Explant, Micropropagation, LED's, Light quality*

INTRODUÇÃO

A micropropagação em batata, permite a reprodução rápida de plantas com características superiores. Possibilitando ainda, a formação de plantas geneticamente idênticas a partir do cultivo *in vitro* de meristema extraído de uma planta matriz e cultivado em meio de cultura, sob condições ambientais controladas. Adicionalmente, os tubérculos obtidos através das plântulas micropropagadas de batata são utilizados como propágulos na obtenção de plantas matrizes para a produção de batata semente às quais serão utilizadas na implantação das lavouras comerciais (EMBRAPA, 2021).

A micropropagação das espécies é afetada pela qualidade da luz, a qual pode ser compreendida como o fotoperíodo, intensidade luminosa e o comprimento de onda emitido pelas diferentes fontes de luz. As plantas são sensíveis tanto à quantidade quanto à qualidade da luz que recebem, podendo utilizá-la na fotossíntese, bem como em outros processos fisiológicos ligados a seu desenvolvimento. Além disso a qualidade da luz exerce forte influência na morfologia das plantas cultivadas (TAIZ & ZAIGER, 2013).

A eficiência da micropropagação ou o sucesso na taxa de multiplicação é afetado por vários fatores, tais como nutrientes, reguladores de crescimento, temperatura e intensidade luminosa. O nível de intensidade luminosa nos cultivos *in vitro* é mais baixo do que os usados na casa de vegetação, as quais ficam acima de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Nas condições de cultivo *in vitro*, a baixa intensidade luminosa é suficiente para determinar a morfogênese. Isto se deve a presença de açúcar no meio de cultura que serve como fonte de energia. De modo geral, a densidade de fluxo de fótons para o cultivo das plantas *in vitro* variaram de 7 a $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Contudo, para a maioria das espécies o nível varia de $30\text{-}40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (CIOĆ et al., 2019). O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes intensidades luminosas com lâmpadas de LED's no cultivo *in vitro* de brotações de batata cultivar Macaca.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do experimento de multiplicação *in vitro* sob diferentes intensidades de fluxo de fótons com LED's foram utilizados como explantes brotações de batata cultivar Macaca, provenientes da fase de multiplicação *in vitro*, com 35 dias de cultivo em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) semi sólido e sem reguladores de crescimento. O meio de cultura usado para a multiplicação foi constituído pelos sais e vitaminas do meio MS acrescido por 30 g L^{-1} de sacarose, 100 mg L^{-1} de mio-inositol e 7 g L^{-1} de ágar. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição do ágar.

Em seguida, o meio de cultura foi levado ao microondas por 15 minutos para dissolver o ágar e posteriormente foi distribuído em frascos de vidro com capacidade de 250 mL. Em cada frasco foi adicionado 40 mL de meio de cultura, sendo o fechamento dos mesmos realizado com papel alumínio. Por fim, o meio de cultura foi esterilizado em autoclave vertical a temperatura de $121 \text{ }^\circ\text{C}$ a 1,5 atm, durante 20 minutos; assim como as placas de Petri, pinças e bisturis para a manipulação dos explantes.

A inoculação dos explantes de batata cultivar Macaca no meio de multiplicação foi realizada no interior de em câmara de fluxo laminar previamente desinfestadas com luz ultravioleta. As brotações foram seccionadas em segmentos com aproximadamente $1 \text{ cm} + 0,2 \text{ cm}$ de comprimento com o auxílio de pinças e bisturi sobre placa de Petri.

Após a inoculação os frascos com os explantes foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Os tratamentos foram constituídos por diferentes intensidades de fluxo de fótons: 25; 50; 75 e $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecidas por lâmpadas constituídas por 80% de LED's vermelhos e 20% de LED's azuis. Sendo o controle constituído pela intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por um frasco de vidro com capacidade de 300 mL contendo 40 mL de meio de cultura semi-sólido com cinco explantes. Após 35 dias de cultivo foi avaliado a altura da brotação, número de folhas, número de entrenó e número de gemas formadas por brotação.

Os dados das variáveis número de folha, entrenó e gemas formadas por brotação de batata foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$. Os dados referentes a altura da brotação não foi transformado. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, sendo as médias comparas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar na tabela 1 que a maior altura da brotação (23,75) foi obtida na intensidade de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ainda na mesma tabela pode-se notar que não houve diferença significativa entre altura das brotações cultivadas sob 50 e 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (16,25 e 18,50 cm, respectivamente). Em relação às brotações de menor comprimento estas foram obtidas na intensidade de 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12,25 cm).

De acordo com Singh & Patel (2014), a intensidade luminosa muito alta pode destruir o aparato fotossintético. Por outro lado, a irradiação muito baixa faz com que a fotossíntese não seja suficiente (SILVA et al., 2017). De modo geral, as brotações de batata de maior altura são as mais desejáveis, pois há uma relação entre a altura da brotação e o número de gemas, de tal forma que quanto maior a altura maior será o número de gemas na brotação. Além disso, as brotações maiores são mais fáceis de enraizarem quando submetidas a fase de enraizamento *in vitro*.

Tabela 1- Altura da brotação e número de folhas em brotações de batata cultivar Macaca, após 35 dias de cultivo em meio de cultura MS e mantidas sob diferentes intensidades de fluxo de fótons fornecidas por lâmpadas LED's.

Intensidade luminosa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Altura da brotação (cm)	Número de folhas
100	23,75 a	31,23 a
75	18,50 b	23,69 b
50	16,25 b	18,97 c
25	12,25 c	16,16 c
CV (%)	12,13	5,51

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Quanto a variável número de folhas, pode-se observar ainda na tabela 1 que a maior quantidade de folhas (31,23 folhas por brotação) foi obtida da intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ainda na mesma tabela pode-se observar que não houve diferença entre quantidade de folhas formadas nas brotações cultivadas sob 25 e 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo estas intensidades luminosas as que promoveram o menor número de folhas formadas por brotação (18,97 e 16,16 folhas por brotação, respectivamente). Resultados distintos foram obtidos por CIOĆ et al. (2019), que avaliaram o efeito de diferentes intensidades luminosas (40; 80 e 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) na micropropagação de *Gerbera jamesonii* e não obtiveram diferença no número de folhas formadas por brotação. Isso sugere que dependendo da espécie micropropagada o aumento da intensidade luminosa pode não contribuir para o aumento do número de folhas formadas.

Para a variável número entrenós, pode-se observar na tabela 2 que a média obtida nas brotações de batata cultivada na intensidade de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (27,34 entrenós por brotação) foi superior as medias obtidas nas intensidades de 50 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Além disso, pode-se notar que não houve diferença significativa entre o número de entrenós das brotações mantidas sobre as intensidades 100 (27,34) e 75 (22,69) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O número de entrenó por brotação está relacionado a taxa de multiplicação da batata, pois quanto maior o número de entrenós por brotação, maior será o número de explantes retirados para dar origem a novas brotações.

Tabela 2- Número de entrenós formados por brotações de batata cultivar Macaca, após 35 dias de cultivo em meio de cultura MS e mantidas sob diferentes intensidades de fluxo de fótons fornecidas por lâmpadas LED's.

Intensidade luminosa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Número de entrenós	Número de gemas
---	--------------------	-----------------

100	27,34 a	30,98 a
75	22,69 ab	23,69 b
50	19,70 b	18,94 c
25	14,93 c	16,16 c
CV (%)	7,07	5,60

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Quanto ao número de gemas, pode-se observar na tabela 4 que o maior número (30,98) foi obtido da intensidade de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ainda na mesma tabela pode-se observar que houve diferença entre número de gemas mantidas sob 50 e 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em relação ao menor número estas foram obtidas nas intensidades de 50 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (18,94 e 16,16 gemas por brotação).

CONCLUSÃO

Para as condições utilizadas no experimento de multiplicação *in vitro* de brotações de batata cultivar Macaca, pode-se concluir a intensidade luminosa influenciou na altura da brotação, número de folhas formada por brotação, número de entrenós e gemas.

A intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ contribuiu para a obtenção da maior altura, número de folhas e gemas formadas por brotação.

REFERÊNCIAS

CIOĆ, MONIKA.; KALISZ, A.; ŻUPNIK, MAREK.; PAWLOWSKA, B. Different LED light intensities and 6-benzyladenine concentrations in relation to shoot development, leaf architecture, and photosynthetic pigments of *Gerbera jamesonii* Bolus *in vitro*. **Agronomy**, v.9, n.358, p.1-16, 2019.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Disponível em <https://www.embrapa.br/contando-ciencia/biotecnologia/-/asset_publisher/wNet9XcMILFn/content/micropropagacao-de-plantas/1355746?inheritRedirect=false>. Acesso em: 21 mai. 2021.

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

SILVA, S.T, BERTOLUCCI, S.K.V.; CUNHA, S.H.B.; SANTOS, L.E.; LAZZARINI, M.C.T.; PINTO, J.E.B.P. Effect of light and natural ventilation systems on the growth parameters and carvacrol content in the *in vitro* cultures of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.129, p.501-510, 2017.

SINGH, P.; PATEL, R.M. Factors influencing *in vitro* growth and shoot multiplication of pomegranate. **Bioscan**, v.9, p.1031-1035, 2014.

SOUZA, J.L; RESENDE, P. Manual de Horticultura Orgânica. 2. ed. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.