

DIFERENTES INTENSIDADES DE FLUXO DE FÓTONS COM LEDS NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE CANA-DE-AÇÚCAR

Different flow intensities of photons with in vitro leds sugar cane roots

Paulo Sérgio Gomes da Rocha¹; Antonio Sergio do Amaral¹; Sergio Henrique Mosele¹; Diogo Vitale Canova².

¹Professor do Curso de Agronomia da URI Erechim, RS. *E-mail*: p.sergio.r@uol.com.br

²Acadêmico do Curso de Agronomia da URI Erechim, RS.

Data do recebimento: 17/04/2018 - Data do aceite: 18/07/2018

RESUMO: O uso de diodos emissores de luz (LEDs) tem alcançado larga aplicação comercial como fonte de iluminação e, nos últimos anos, na utilização em micropropagação vegetativa. Contudo, não há estudos avaliando a intensidade de fluxo de fótons no enraizamento de brotações de cana-de-açúcar. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs azuis e vermelhos no enraizamento de brotações de cana-de-açúcar. Os explantes foram cultivados por 35 dias sob as intensidades de fluxo de fótons de 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A porcentagem de enraizamento não foi influenciada pela intensidade de fluxo de fótons, mas obteve-se incremento no número de raízes e brotos nas intensidades de fluxo de fótons de 75 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em relação à testemunha (25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). O comprimento das brotações mantidas sob 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (5,6 cm) foi superior ao tratamento controle (3,7 cm) e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (3,9 cm). Os resultados observados sugerem que a otimização da altura da brotação enraizada é alcançada com 65,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Palavras-chave: Explante. Qualidade da luz. Diodos emissores de luz.

ABSTRACT: The use of light emitting diodes (LEDs) have achieved wide commercial application as light source, and in recent years, it has been used in vegetative micro propagation. However, there are no studies evaluating the flux of photons in the rooting sugarcane shoots. The aim of this study was to evaluate different flux intensities of photons with blue and red LEDs in the rooting sugarcane shoots. The explants were maintained for 35 days under photon fluxes of 25; 50; 75 and 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, photoperiod of 16 hours

and temperature of 25 ± 2 °C. The rooting percentage was not influenced by the photon flux intensity, but an increase in the number of roots and shoots at the photon flux intensities of 75 and 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ was observed in relation to the control (25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The length of shoots maintained under 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (5.6 cm) was higher than the control (3.7 cm) and 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (3.9 cm) treatments. The results suggest that the optimization of rooted bud height is achieved with 65.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Keywords: Explant. Quality of light. Light Emitting Diodes.

Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma das principais culturas do panorama agrícola brasileiro. A espécie destaca-se principalmente por ser uma fonte de energia renovável. A partir da cana-de-açúcar são obtidos vários produtos e subprodutos, tais como álcool, açúcar, eletricidade, entre outros (ROCHA et al., 2013). No mundo, a cultura da cana-de-açúcar ocupa uma área de mais de 10,2 milhões de hectares (FAO, 2018). Ainda de acordo com dados da FAO (2018), na safra de 2015/16, o Brasil produziu 768,7 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. Essa produção corresponde a cerca de 45% da produção mundial, o que consolida o país como o maior produtor de cana-de-açúcar e maior exportador de açúcar no globo.

Dentre as variedades de cana-de-açúcar existentes no país, pode-se destacar a RB855156, a qual apresenta maturação superprecoce, bom perfilhamento, especialmente nas socas, segmentos de colmo preso ao sistema radicular deixado após o corte da cana-de-açúcar; apresenta crescimento ereto e despalha facilmente. Além disso, possui resistência às principais doenças: carvão, escaldadura-das-folhas, estrias vermelhas, ferrugem marrom e mosaico (RIDESA, 2018).

A cana-de-açúcar é produzida por meio da propagação assexuada. Assim, as técnicas de micropropagação são ferramentas importantes para disponibilizar mais rapidamente, aos produtores, mudas sadias das variedades melhoradas, as quais são produzidas a partir do cultivo de meristemas. Dentre as vantagens desta forma de propagação, destaca-se a possibilidade de obtenção de plantas sadias, garantia da estabilidade genética e a produção de um grande número de mudas, durante o ano inteiro (LAKSHMANAN, 2006). Contudo, embora a cana-de-açúcar seja responsiva *in vitro*, o custo de produção tem sido fator limitante ao uso de mudas micropropagadas em maior escala pelos produtores (JALAJA et al., 2008).

Dentre as condições ambientais envolvidas na micropropagação das plantas, a intensidade de fluxo de fótons fotossintéticos, ou seja, a energia transportada por uma radiação eletromagnética através de uma área por unidade de tempo, é tida como um dos fatores mais importantes. De acordo com Kim et al. (2004), o fluxo de fótons afeta o crescimento das brotações cultivadas e a realização da fotossíntese em várias espécies de plantas cultivadas *in vitro*. Por outro lado, as respostas exercidas pelo fluxo de fótons sobre o crescimento *in vitro* dos explantes podem variar de acordo com a espécie micropropagada e o estágio de desenvolvimento da brotação (HAHN et al., 2000).

A intensidade de luminosa pode ter um efeito pronunciado no desenvolvimento foliar, modificando certas características, como a espessura da folha, a diferenciação do mesofilo, o desenvolvimento vascular, a divisão celular e o desenvolvimento dos estômatos. Para Economou; Read (1987), a intensidade luminosa, além de influenciar no crescimento e na proliferação das brotações, pode afetar diretamente a formação de raízes, podendo também, quando em excesso, reduzir a formação das mesmas.

A fonte de luz utilizada em salas de crescimento nos laboratórios de cultura de tecidos, de modo geral, é composta por lâmpadas fluorescentes brancas, as quais foram inicialmente desenvolvidas para iluminação de ambientes e apresentam custos de aquisição mais acessíveis. Por outro lado, os diodos emissores de luz (LEDs) têm alcançado larga aplicação comercial e nos últimos anos estão sendo avaliados na micropropagação de plantas no Brasil (ROCHA et al., 2010; SILVA et al., 2016; FERREIRA et al., 2016; ROCHA et al., 2017). A utilização dos LEDs tem sido impulsionada com o aquecimento global e com a preocupação ambiental, pois, cada vez mais, tem-se buscado o uso de equipamentos mais eficientes, menos poluentes e com maior vida útil (STEELE, 2007).

Os LEDs são considerados como uma alternativa bastante promissora por apresentarem características ímpares em relação às lâmpadas convencionais, tais como alta eficiência na geração de luz com baixa emissão de calor, ausência de substâncias tóxicas tais como mercúrio, pequeno volume e massa, e longo período de vida útil, podendo atingir até 100.000 horas (NHUT et al., 2003; YEH; CHUNG, 2009; NHUT; NAM, 2010). Além disso, de acordo com Skin et al. (2008) e Ferreira (et al. (2016), os LEDs proporcionam aumento da quantidade de clorofila e de carotenoides nos tecidos das plantas, maior

taxa de multiplicação dos explantes e maior comprimento das brotações.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs azuis e LEDs vermelhos no enraizamento *in vitro* de brotações de cana-de-açúcar, variedade RB855156.

Material e Métodos

Para o desenvolvimento do experimento foram usados, como explantes, brotações de cana-de-açúcar da variedade RB 855156, provenientes da fase de multiplicação *in vitro*, oitavo subcultivo em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) semissólido, acrescido de 0,5 mg L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina) (Figura 1).

Figura 1 - Aspecto das brotações de cana-de-açúcar, variedade RB855156, com 35 dias de cultivo em meio de multiplicação, utilizadas para o enraizamento *in vitro*



Brotações de cana-de-açúcar com aproximadamente $2,5 \pm 0,3$ cm de altura foram inoculadas em meio de cultura MS acrescido por 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 30 g L⁻¹ de sacarose e 7,0 g L⁻¹ de ágar, sem a adição de reguladores de crescimento. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8, antes da adição do agente solidificante. A esterilização do meio de cultura foi realizada em autoclave a temperatura de 121 °C a 1,5 atm, durante 20 minutos.

Após a inoculação em meio de cultura, as brotações foram cultivadas sob quatro diferentes intensidades de fluxo de fótons: 25 (tratamento controle), 50, 75 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecidas por lâmpadas constituídas por 80% de LEDs vermelhos e 20% de LEDs azuis. O fotoperíodo usado no cultivo foi de 16 horas e temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso com cinco repetições por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por um frasco de 600 mL contendo 80 mL de meio de cultura semissólido com cinco explantes. Após 35 dias, foram avaliados a porcentagem de enraizamento, número e comprimento das brotações formadas e número médio de raízes por explante.

Os dados obtidos do fator intensidade luminosa foram submetidos à análise de regressão, por meio do programa estatístico Sanest. Os dados do número de brotações e raízes por brotação foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$, a porcentagem de enraizamento foi transformada em arco seno $(x/100)^{1/2}$, enquanto os dados da variável comprimento da brotação não foram transformados. Para as análises estatísticas, foi adotado 5% de probabilidade de erro.

Resultados e Discussão

Observou-se efeito significativo da intensidade luminosa para todas as variáveis analisadas, exceto para a porcentagem de enraizamento. Em todas intensidades luminosas avaliadas obteve-se 100% de enraizamento das brotações de cana-de-açúcar cultivadas, isto sugere a facilidade de enraizamento *in vitro* desta espécie. De modo geral, as espécies herbáceas são mais fáceis de enraizarem *in vitro* do que as lenhosas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Leite et al. (2000), avaliando o enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de pereira OX x F97, verificaram

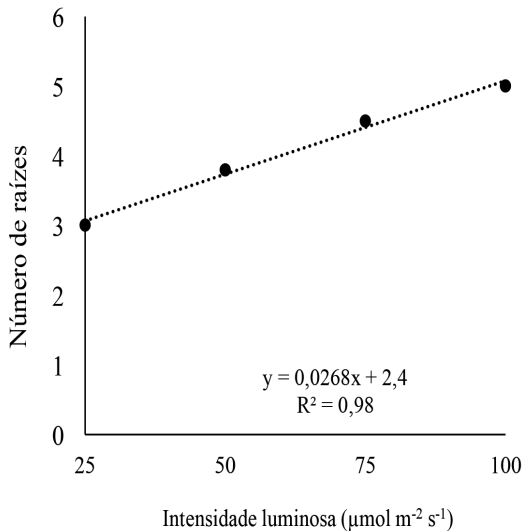
que não houve efeito significativo da intensidade de luminosidade na porcentagem de enraizamento.

Em relação à variável número de raízes formadas por brotação, pode-se notar um comportamento linear crescente (Figura 2). Foi observado que o aumento da intensidade luminosa nos ambientes de cultivo contribuiu para o aumento do número de raízes formadas por brotação. Na intensidade de fluxo de fótons de 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (tratamento controle) obteve-se a média de 3,0 raízes por brotação e sob a intensidade 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ foram obtidas 5 raízes por brotação, o que representa um aumento de 66,7 % em relação ao tratamento controle. Avaliando a intensidade luminosa fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas no enraizamento *in vitro* de brotações de porta-enxerto de pereira, Leite et al. (2000) observaram que o aumento da intensidade luminosa, de 27 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para 40,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aumentou em 25% o número de raízes formadas nas brotações do porta-enxerto de pereira OH x F97. De acordo com George; Sherrington (1984) e Zhou et al. (2005), na fase de enraizamento, etapa que antecede a aclimatização, o uso de intensidades altas poderá facilitar a sobrevivência de algumas espécies das plantas transplantadas ao ambiente externo, pois as intensidades luminosas dos ambientes de cultivo são muito inferiores àquelas dos ambientes naturais de cultivo.

Adicionalmente, de acordo com Ibaraki; Nozaki (2005), o aumento da intensidade luminosa na fase de enraizamento *in vitro* poderá contribuir para a melhoria da capacidade fotossintética dos tecidos das plantas. Avaliando a intensidade da luz (50 e 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no cultivo de *Castanea sativa*, Sáez et al. (2012) observaram que a quantidade de clorofilas a e b, assim como taxa fotossintética, ocorreram sob a condição de cultivo com maior intensidade de luz. Contudo, a intensidade luminosa requerida nos ambientes de cultivo *in vitro* pode variar

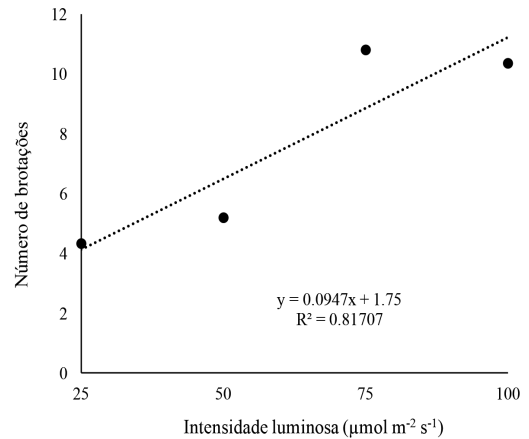
entre as espécies, fase de cultivo da micro-propagação e tipo de explante.

Figura 2 - Número de raízes formadas por brotação de cana-de-açúcar, variedade RB855156, após 35 dias de cultivo em meio de cultura Murashige & Skoog, sem reguladores de crescimento e mantidas sob diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs



Quanto ao número de brotações formadas, verificou-se que na fase de enraizamento as brotações continuaram a multiplicar mesmo sem o BAP. Em parte, a multiplicação observada pode ser atribuída ao efeito residual desta citocinina no tecido vegetal, pois as brotações utilizadas para enraizamento foram provenientes do oitavo subcultivo em meio de multiplicação. Contudo, além do efeito residual do BAP nas brotações submetidas ao enraizamento, verificou-se que o aumento da intensidade luminosa também contribui positivamente para o aumento da formação de brotações adventícias. Na menor intensidade ($25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obteve-se quatro brotações por explante e na intensidade de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ verificou-se 10 brotações por explante (Figura 3). Sáez et al. (2012), avaliando a intensidade da luz (50 e $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no cultivo de *C. sativa*, obtiveram o maior número de brotações na intensidade de $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Figura 3 - Número de brotações de cana-de-açúcar, variedade RB855156, formadas *in vitro* após 35 dias de cultivo em meio de cultura Murashige & Skoog, sem reguladores de crescimento e mantidas sob diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs



Em relação à altura das brotações enraizadas, pode-se observar, na Figura 4, um comportamento quadrático. A maior altura da brotação ($5,6 \text{ cm}$) foi estimada na intensidade luminosa de $65,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figuras 4 e 5). Coelho (2016), avaliando o crescimento *in vitro* de brotações de *Pogonotemon cablin* (patchouli), sob diferentes intensidades luminosas (28 , 51 , 64 , 76 e $113 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante 40 dias de cultivo, verificou que o maior crescimento ocorreu sob as intensidades de 51 , 64 e $76 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, não existindo diferenças entre elas. Por outro lado, no cultivo de brotações de *Momordica grosvenori*, planta medicinal da família das cucurbitáceas, a intensidade de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ foi considerada a mais adequada para o crescimento (ZHANG et al., 2009). Isto demonstra que, para o cultivo *in vitro*, a intensidade luminosa considerada como a mais adequada pode variar de acordo com a espécie. Ferreira et al. (2016), avaliando fontes de luz e concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar RB867515, obtiveram brotações com altura média $2,5 \text{ cm}$ sob a intensidade de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecidos por LEDs brancos.

Figura 4 - Altura das brotações de cana-de-açúcar, variedade RB855156, enraizadas *in vitro* após 35 dias de cultivo em meio de cultura Murashige & Skoog, sem reguladores de crescimento e mantidas sob diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs

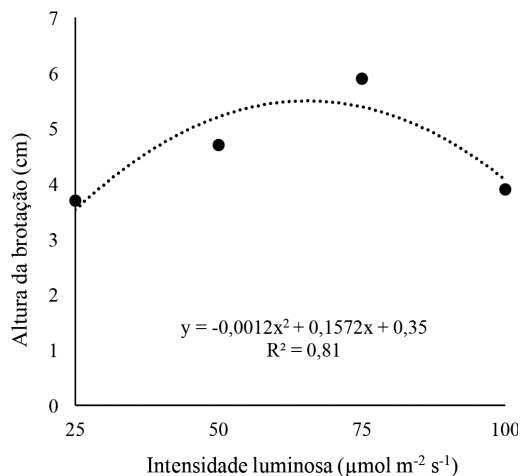


Figura 5 - Aspecto das brotações de cana-de-açúcar, variedade RB855156, enraizadas *in vitro* após 35 dias de cultivo em meio de cultura Murashige & Skoog, sem reguladores de crescimento e mantidas sob diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs [25; 50; 75 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (esquerda/direita)]



Conclusão

Para as condições avaliadas, observou-se que o aumento da intensidade de fluxo de fótons com LEDs exerceu influência positiva no número de brotações e de raízes da cana-de-açúcar, na variedade RB855156. A análise dos resultados indica que a intensidade de fluxo de fótons de $65,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ é a mais adequada para a obtenção de plantas mais altas de cana-de-açúcar.

AGRADECIMENTO

Ao CETENE - Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (Recife-PE), por ter cedido as brotações de cana-de-açúcar estabelecidas *in vitro* para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

COELHO, C. C. R. **Crescimento *in vitro* de *Pogostemon cablin* sob intensidades luminosas e LEDs**, MG. Universidade Federal de Lavras - PGPMAc. Dissertação de Mestrado. Lavras/MG. 2016. 90 p.

ECONOMOU, A. S.; READ, P.E. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagation systems. **Hortscience**, v. 22, n. 5, p. 751-754, oct. 1987.

- FAO. Food and Agriculture Organization. **Faostat**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 05 abr. 2018.
- FERREIRA, L.T.; SILVA, M.M.A.; MACÊDO, C.R.; WILLADINO, L. Fonte de luz e concentração de sacarose no cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB867515). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 12, n. 2, p. 46-52, 2016.
- GEORGE, E.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Englend: Exegetics, p. 223-227, 1984.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, p. 83-260. 1998.
- HAHN, E. J.; KOZAI, T.; PAEK, K. Y. Blue and red light-emitting diodes with or without sucrose and ventilation affect *in vitro* growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets. **Journal of Plant Biology**, v. 43, p. 247-250, 2000.
- JALAJA, N.C.; NEELAMATHI, D.; SREENIVASAN, T.V. **Micropropagation for quality seed production in sugarcane in Asia and the Pacific**. Rome: FAO, 2008. 46 p.
- KIM, S. J.; HAHN, E. J.; HEO, J. W.; PEAK, K. Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of *Chrysanthemum* plantlets *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, v. 101, p. 143-151, 2004.
- IBARAKI, Y.; NOZAKI, Y. Estimation of light intensity distribution in a culture vessel. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 80, n. 1, p. 11-113, 2005.
- LEITE, G. B.; FINARDI, N.; FORTES, G.R.L. Efeito de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de Pereira OH x F97. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 2, p. 335-357, 2000.
- LAKSHMANAN, P. Somatic embryogenesis in sugarcane: Na addendum to the invited review. **In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant**, v. 42, n. 3, p. 201-205, 2006.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NHUT, D.T.; TAKAMURA, T.; WATANABE, H.; TANAKA, M. Efficiency of a novel culture system by using light-emitting diode (led) on *in vitro* and subsequent growth of micropropagated banana plantlets. **Acta Horticulturae**, v. 616, p. 121-127, 2003.
- NHUT, D. T.; NAM, N. B. Light-emitting diodes (LEDs): An artificial lighting source for biological studies. **Proceedings of the 3rd International Conference on the Development of BME**, 133-138. 2010.
- RIDESA. Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. Disponível em: <https://docs.wixstatic.com/ugd/097ffc_e328a69f7b78434088b21262cab3c75f.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2018.
- ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; SANTOS, U. L. Diodos emissores de luz e concentrações de BAP na multiplicação *in vitro* de morangueiro. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1922-1928, 2010.
- ROCHA, P. S.G. R; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. Sugarcane micropropagation using light emitting diodes and adjustment in growth-medium sucrose concentration. **Ciência Rural**, v. 43, n. 7, p. 1168-1173, 2013.
- ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; MOSELE, S. H. Uso de LEDs na multiplicação *in vitro* de três cultivares de bananeira. **Revista Colombiana de Ciencias Horticolas**, v. 11, p. 247-252, 2017.

SAÉZ, P. L.; BRAVO, L. A.; LATSAGUE, M. I.; SÁNCHEZ, M. WE.; RÍOS, D.G. Increased light intensity during *in vitro* culture improves water loss control and photosynthetic performance of *Castanea sativa* grown in ventilated vessels. **Scientia Horticulturae**, v. 138, p. 7-16, 2012.

SILVA, M. M. A.; OLIVEIRA, A. L. B.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L.; GOUVEIRA-NETO, A. The effect of spectral light quality on *in vitro* culture of sugarcane. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 22, 2016.

SKIN, H. S.; MURTHY, H. N.; HEO, J. W.; HAHN, E. J. & PAEK, K. Y. The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured *Doritaenopsis* plant. **Acta Physiologia & Plantarum**, v. 30, p. 339-343, 2008.

STEELE, R. V. The story of a new light source. **Nature**, v. 1, p. 25-26, 2007.

YEH, N.; CHUNG, J. P. High-brightness LEDs: energy efficient lighting sources and their potential in door plant cultivation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 2175-2180. 2009.

ZHANG, M.; ZHAO, D.; ZENGQIANG, M; XUEDONG, L. Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. **HortSciense**, v. 44, n. 3, p. 757-763, 2009.

ZHOU, Y. H.; GUO, D. P.; ZHU, Z. J.; QIAN, Q. Q. Effects of *in vitro* rooting environments and irradiance of growth and photosynthesis of strawberry plantlets during acclimatization, **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 81, n. 1, p. 105-108, 2005.