ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB DIFERENTES INTENSIDADES DE FLUXO DE FÓTONS COM LEDS

PAULO SÉRGIO GOMES DA ROCHA[1], RODINEI DOS SANTOS[2], LUCAS LUIZ BRUSCHI DEMOLINER[3], GABRIELA GIRELLI AMBRO[4], AMITO JOSÉ TEIXEIRA[5]

[1]Dr. em Agronomia, Prof. do DCA, URI, Erechim-RS, p.sergio.r@uol.com.br;
[2]Acadêmico do Curso de Agronomia, URI, Erechim-RS, dagcafw1@hotmail.com;
[3]Acadêmico do Curso de Agronomia, URI, Erechim-RS, lucasbruschi14@gmail.com;
[4]Acadêmica do Curso de Agronomia, URI, Erechim-RS, gabrielaambross@gmail.com;
[5]Dr. em Agronomia, Prof. do DCA, URI, Erechim-RS, amito@uricer.edu.br;

Apresentado no
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC
15 a 17 de setembro de 2021

RESUMO: As técnicas de micropropagação *in vitro* tem sido uma ferramenta importante na produção comercial de plantas de alta qualidade e livre de vírus. Sendo os LED's uma ótima fonte de luz na para a otimização deste processo de produção de plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs no enraizamento de brotações de cana-de-açúcar variedade RB986955. As brotações foram cultivadas em meio MS acrescido por 100 mg L^{-1} de mio-inositol, 7 g L^{-1} de ágar, 30 g L^{-1} de sacarose, sendo o pH ajustado para 5,8. Os explantes foram cultivados por 35 dias sob as intensidades de fluxo de fótons de 25; 50; 75 e 100 µmol m^{-2} s^{-1}, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 + 2 ºC. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso com cinco repetições por tratamento. Observou-se efeito significativo do fator intensidade luminosa para todas as variáveis analisadas. A porcentagem de enraizamento variou de 75% (25 µmol m^{-2} s^{-1}) a 100% nas demais intensidades. Verificou-se comportamento linear crescente da variável altura das brotações à medida que a intensidade luminosa foi aumentada. A altura da brotação variou entre 10 cm (25 µmol m^{-2} s^{-1}) e 14,8 cm (100 µmol m^{-2} s^{-1}). O maior número de folhas por brotação (8,3) foi estimado na intensidade luminosa de 70,6 µmol m^{-2} s^{-1}.
PALAVRAS-CHAVE: Diodos emissores de luz, meio de cultura, explante, micropropagação

IN VITRO ROOTING OF SUGARCANE UNDER DIFFERENT INTENSITIES OF PHOTON FLOW WITH LEDS

ABSTRACT: *In vitro* micropropagation techniques have been an important tool in the commercial production of high-quality, virus-free plants. LED's are a great source of light for optimizing this plant production process. The aim of this work was to evaluate different intensities of photon flow with LEDs in the rooting of sugarcane sprouts variety RB986955. Shoots were grown in MS medium plus 100 mg L^{-1} of myo-inositol, 7 g L^{-1} of agar, 30 g L^{-1} of sucrose, the pH being adjusted to 5.8. The explants were cultured for 35 days under the photon flow intensities of 25; 50; 75 and 100 µmol m^{-2} s^{-1}, photoperiod of 16 hours and temperature of 25 $\pm$ 2 ºC. The experimental design used was entirely randomized with five replicates per treatment. There was a significant effect of the light intensity factor for all variables analyzed. The percentage of rooting ranged from 75% (25 µmol m^{-2} s^{-1}) to 100% at other intensities. There was an increasing linear behavior of the sprout height variable as the light intensity was increased. Shooting height varied between 10 cm (25 µmol m^{-2} s^{-1}) and 14.8 cm (100 µmol m^{-2} s^{-1}). The highest number of leaves per shoot (8.3) was estimated at the light intensity of 70.6 µmol m^{-2} s^{-1}.
KEYWORDS: Light Emitting Diodes, culture medium, explant, micropropagation.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), é produzida por meio da propagação assexuada. Sendo, as técnicas de micropropagação utilizada rotineiramente no país para disponibilizar mais rapidamente aos produtores, mudas sadias das variedades melhoradas. A produção de mudas *in vitro* ocorre a partir do cultivo de meristemas. Dentre as vantagens desta forma de propagação, destaca-se a possibilidade de obtenção de plantas de cana-de-açúcar sadias, garantia da estabilidade genética e a produção de um grande número de mudas, durante o ano inteiro (Lakshmanan, 2006).

Entretanto, 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 (Jalaja et al., 2008). A eficiência ou sucesso da micropropagação das plantas é afetada por vários fatores, tais como o tipo de explante, meio de cultura, reguladores de crescimento, temperatura, intensidade luminosa e o fotoperíodo (Chen et al., 2019).

Dentre às 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 fóton 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 estádio de desenvolvimento da brotação (Hahn et al., 2000).

A intensidade de luz pode ter um efeito pronunciado no desenvolvimento foliar, modificando certas características, como a espessura da folha, a diferenciação do mesófilo, 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.

De modo geral, a intensidade luminosa média para o cultivo *in vitro* das plantas herbáceas nas salas de crescimento oscilam entre 7 e 120 µmol m^{-2} s^{-1}, porém a maioria das espécies a intensidade considerada como ótima varia de 30 a 40 µmol m^{-2} s^{-1} (Cioć et al., 2019).

Quanto a fonte de luz utilizada em salas de crescimento nos laboratórios de cultura de tecidos, de modo geral, são as lâmpadas fluorescentes brancas, as quais foram inicialmente desenvolvidas para iluminação de ambientes. Os LED's têm alcançado larga aplicação comercial, nos últimos anos estão sendo avaliados na micropropagação de plantas. Sua aplicação 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 (Rocha et al., 2010). O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes intensidades de fluxo de fótons com LED's no enraizamento *in vitro* de brotações de cana-de-açúcar variedade RB986955.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus Erechim. Para o desenvolvimento do experimento de enraizamento *in vitro* sob diferentes intensidades de fluxo de fótons com LED's foram utilizados como explante, brotações de cana-de-açúcar da variedade RB986955, provenientes da fase de multiplicação *in vitro* e com 35 dias de cultivo em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) semi-sólido acrescido de 1,0 mg L^{-1} de BAP.

A inoculação das brotações de cana-de-açúcar com aproximadamente 2,5 $\pm$ 0,3 cm de altura foi realizada no interior de em câmara de fluxo laminar com o auxílio de pinças e bisturis estéreis. O meio de cultura usado foi constituído por sais do meio MS acrescido por 100 mg L^{-1} de mio-inositol, 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 gar. A esterilização do meio de cultura foi realizada em autoclave a temperatura de 121 ºC a 1,5 atm, durante 20 minutos.

Após a inoculação as brotações foram transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 $\pm$ 2 ºC, fornecidos por lâmpadas de LED's constituídas por 80% de LED's vermelhos e 20% de LED's azuis.

Os tratamentos foram constituídos por sob diferentes intensidades de fluxo de fótons [25 (tratamento controle); 50; 75 e 100 µmol m^{-2} s^{-1}]. O delineamento experimental utilizado foi

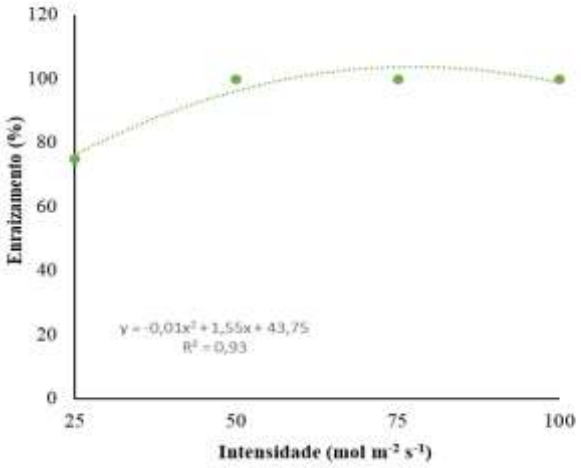
inteiramente ao acaso com seis repetições por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por um frasco de 600 mL contendo 80 mL de meio de cultura semi-sólido com quatro explantes. Após 35 dias, foram avaliados a porcentagem de enraizamento, comprimento da maior brotação, número de folhas, massa fresca das plantas e comprimento das raízes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, comparando-se as médias do fator fonte de luz pelo teste de Duncan. Os dados da porcentagem de enraizamento foi transformada em arco-seno $(x/100)^{½}$, número de folhas foram transformados em $(x + 0,5)^{½}$, enquanto os dados da variável a altura da planta e massa fresca das plantas não foram transformados. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, as médias do fator intensidade luminosa foram submetidos a análise de regressão polinomial. Para as análises estatísticas, foram adotados 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

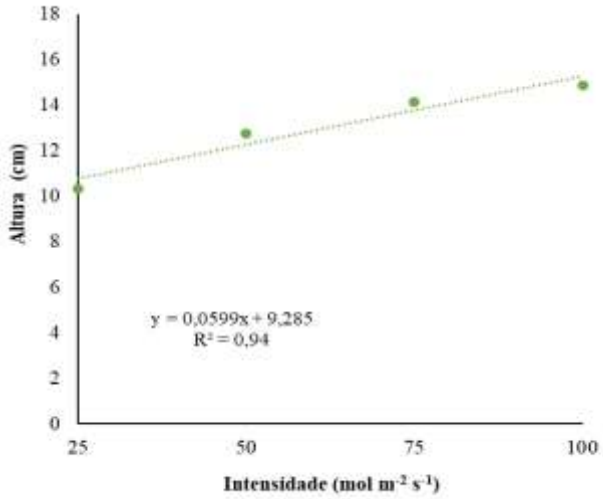
Observou-se efeito significativo do fator intensidade luminosa para todas as variáveis analisadas no enraizamento das brotações de cana-de-açúcar. Na figura 1 pode-se notar que na menor intensidade luminosa (25 µmol m^{-2} s^{-1}) a porcentagem de enraizamento das brotações foi de 75%, já nas demais intensidades foi alcançado 100% de enraizamento. Avaliando diferentes intensidades luminosas no enraizamento in vitro de cana-de-açúcar variedade RB855156, Rocha et al (2018) não observaram diferença para esta variável. Também avaliando o enraizamento *in vitro* sob diferentes intensidades Zhang et al. (2009), observaram que não haver diferença na porcentagem de enraizamento, pois todas as brotações de *Momordica grosvenori* enraizaram 100% nas intensidades testadas (25; 50; 100 e 200 µmol m^{-2} s^{-1}). Possivelmente, seja necessário ajustar a intensidade luminosa para a otimização do enraizamento *in vitro* não só entre as diferentes espécies como também entre as cultivares de uma mesma espécie.

Figura 1. Porcentagem de enraizamento *in vitro* das brotações de cana-de-açúcar variedade RB986955 cultivada sob diferentes intensidades luminosas com LED's.



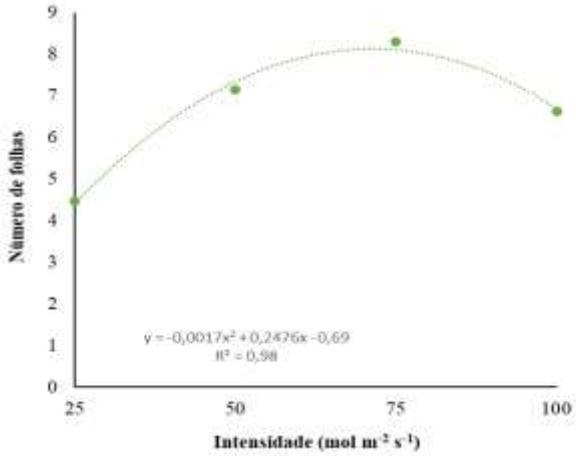
Pode-se observar na figura 2 com comportamento linear crescente da variável altura das brotações à medida que a intensidade luminosa é aumentada no ambiente de cultivo. Nota-se também que a altura da brotação variou entre 10 cm (25 µmol m^{-2} s^{-1}) e 14,8 cm (100 µmol m^{-2} s^{-1}). Embora as plantas cultivadas *in vitro* demandem pouca intensidade luminosa quando comparada as condições de cultivo *ex vitro*, devido ao fornecimento de sacarose como fonte de energia, observa-se que o fornecimento de intensidades acima da média usualmente utilizada (30 a 40 µmol m^{-2} s^{-1}), poderá otimizar o processo de rizogênese. Pois, para a indução e crescimento das raízes adventícias há necessidade de energia.

Figura 2. Altura das brotações de cana-de-açúcar variedade RB986955 cultivada sob diferentes intensidades luminosas com LED's.



Quanto a validável número de folhas por planta, pode-se observar um comportamento quadrático (Figura 3). O maior número de folhas por brotação (8,3) foi estimado na intensidade luminosa de 70,6 µmol m^{-2} s^{-1}. De acordo com Dou et al. (2017) e Ma et al (2010), a luz, especialmente a intensidade luminosa, é considerada um dos fatores ambientais chave no controle do crescimento e desenvolvimento da planta. Assim como exerce influência na morfogênese, metabolismo e teor de clorofila na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas. Ma et al (2010), verificaram que o aumento da intensidade luminosa contribuiu para a redução de clorofila e tamanho da área foliar.

Figura 3. Número de folhas das brotações de cana-de-açúcar variedade RB986955 cultivada sob diferentes intensidades luminosas com LED's.



CONCLUSÃO

Para as condições em que o trabalho foi conduzido, pode-se concluir:

e A intensidade de fluxo de fótons exerce no enraizamento das brotações de cana de açúcar, a partir da intensidade de 50 µmol m^{-2} s^{-1} é possível obter 100 de enraizamento das brotações.

A altura da brotação da cana-de-açúcar respondeu de forma linear crescente até a máxima intensidade avaliada (100 µmol m^{-2} s^{-1}).

O aumento do número de folhas por brotações de cana-de-açúcar tende a cair a partir de 70,6 µmol m^{-2} s^{-1}.

REFERÊNCIAS

Cioć, M.; Kalisz, A.; Żupnik, M.; Pawlowska, B. Different Led light intensities and 6-benzyladenine concentrations in relation to shoot development, leaf architecture, and photosynthetic pigments of Gérbera jamesonni Bolus *in vitro*. Agronomy, v.9, p.2-16, 2019.

Chen, Y. M.; Huang, T. W.; Pan, I. C. Effects of light intensity and plant growth regulators on callus proliferation and shoot regeneration in the ornamental succulent Haworthia. Botanical Studies, v.60, n.10, p.1-8, 2019.

Economou, A.S.; Read, P.E. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagartion systems. HortScience, v.22, n.5, p.751-754, 1987.

Dou H.; Niu, G.; Gu, M.; Masabni, J.G. Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled Environments. Horticulturae, v.3, n.36, p.2-11, 2017.

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.

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.

Ma, S.; Jiang, S.; Xiao, Y. Light intensity affects growth, photosynthetic capability, and total flavonoid accumulation of anoectochilus plants. HortScience, v.45, n.6, p.863-867, 2010.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15:473-497.

Rocha, P.S.G.; Amaral, A.S.; Mosele, S.H.; Canova, D. V. Diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDS no enraizamento *in vitro* de cana-de-açúcar. Perpectiva, v.42, n.159, p.7-14, 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.

Zhang, M.; Zhao, D.; Ma, Z.; Li, X.; Xiao, Y. Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. HortScience, v.44, n.3, p.757-763, 2009.