

EFEITO DE TROCAS GASOSAS E SACAROSE NO TEOR DE CLOROFILA, NOS ESTÔMATOS E NA MICROPROPAGAÇÃO DE MORANGUEIRO

Dalila R. PEREIRA¹; Maria F. VASCONCELOS¹; Wellington M. BARBOSA²; Maria G. TEIXEIRA³

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da vedação de frascos e de diferentes concentrações da sacarose no cultivo *in vitro* de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch). Propágulos de *F. x ananassa* foram cultivados em frascos com tampas com e sem orifícios cobertos com filtro. O meio de cultura utilizado foi o MS com 0, 15 e 30 g.L⁻¹ de sacarose. Analisou-se o teor de clorofila e a funcionalidade. Os morangueiros cultivados em meio sem sacarose apresentaram baixo teor de clorofila. As trocas gasosas favoreceram a produção do pigmento e a funcionalidade estomática.

Palavras-chave: Pigmentos fotossintéticos; Ventilação natural; *Fragaria x ananassa* Duch; Aclimatização.

1. INTRODUÇÃO

A técnica de cultivo *in vitro* permite a produção massal de mudas com alta qualidade genética e fitossanitária, atendendo as exigências necessárias para a produção de matrizes de morangueiro (DIAS et al., 2014).

No entanto, no cultivo *in vitro* convencional os explantes são mantidos em frascos totalmente vedados. Nessa condição, a atividade fotossintética das plântulas é limitada. Isso pode interferir diretamente no desenvolvimento, na taxa de multiplicação e no processo de aclimatização das mudas (ANTUNES et al., 2010).

Dado a importância do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a ocorrência de alterações no desenvolvimento *in vitro* do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duchesne) quando este é submetido a diferentes concentrações de sacarose e cultivado em frascos que permitem trocas gasosas, bem como a influência dessas condições durante a aclimatização das mudas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Como explantes foram utilizados propágulos de morangueiro mantidos *in vitro* em sala de crescimento do Laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS, *campus* Machado, oriundos de meristema e já subcultivados por 3 vezes segundo protocolo da EMBRAPA (2012). Estes foram

¹Bolsista Fomento Interno, IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: drobertapereira@gmail.com.

²Professor, IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: wmbarbosa@hotmail.com.

³Técnica de Laboratório, IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: maria.teixeira@ifsuldeminas.edu.br.

inoculados em frascos de polycarbonato de 1 L contendo 250 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). Em cada frasco foram colocados 10 explantes. Os frascos foram fechados com tampas de polietileno totalmente vedadas e tampas com orifício de 2 cm² coberto com uma camada de fita veda-rosca e duas camadas de fita microporosa que tiveram a função de filtro, permitindo assim trocas gasosas. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 16 horas.

Foram 6 tratamentos, utilizando 5 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por 10 explantes por frasco. Após 30 dias os morangueiros foram subcultivados, mantendo-se as condições de trocas gasosas e concentrações de sacarose. Depois de 60 dias coletaram-se material para as análises do teor de clorofila e funcionalidade estomática.

Para a análise da funcionalidade estomática foram confeccionadas lâminas por meio da técnica de impressão paradérmica com fita adesiva transparente. Fotomicrografias foram feitas no microscópio Leica DM500 acoplado por câmera Leica EC3 no aumento de 40x. As imagens foram capturadas pelo programa LAS EZ. As imagens adquiridas foram analisadas com o programa *ImageJ*. Mediu-se o diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) dos estômatos. Fez-se a relação DP dividido por DE (DP/DE) para determinar a funcionalidade estomática.

Para a análise de clorofila, foram retirados das folhas discos de 6,0 mm de diâmetro de cinco plantas por tratamento (1 planta/repetição e 1 disco/folha). O material coletado foi rapidamente transferido para tubo Falcon, previamente revestidos com papel alumínio para excluir luminosidade, contendo 15 mL de acetona 80%, segundo ARNON (1949), modificado pela supressão das etapas de trituração e centrifugação dos discos. Os frascos foram mantidos no escuro por 48 horas. A densidade óptica dos filtrados foi lida em espectrofotômetro Bel Photonics SP1105, nos comprimentos de ondas 645 e 663 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os teores de clorofila (a,b e totais) foram menores nas plantas que foram cultivadas em meio sem sacarose e com 15 g.L⁻¹ em frasco com tampa sem filtro. Já o tratamento com 15 g.L⁻¹ de sacarose e tampa com filtro promoveu maiores teores de clorofila, tanto quanto os tratamentos com 30 g.L⁻¹ de sacarose, com tampas totalmente vedada ou com tampa com orifício (Figura 1).

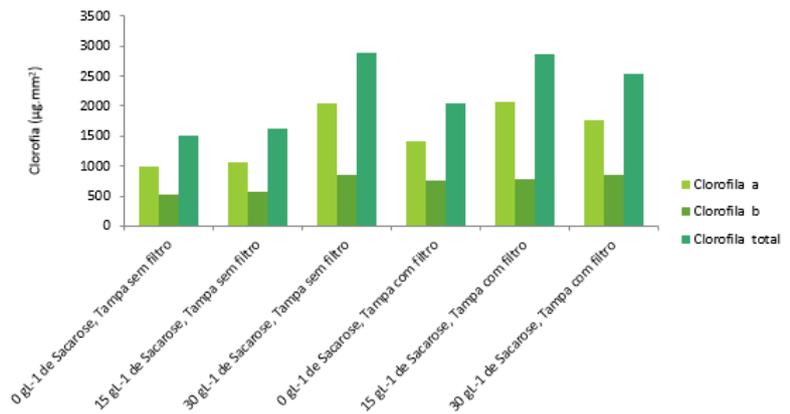


Figura 1. Teores de clorofila em folhas de *F. x ananassa* cultivado em diferentes condições de vedação de frasco e concentração de sacarose. Médias seguidas de letras iguais no mesmo tipo de clorofila não se diferem significativamente.

Assim, verificou-se que a presença de tampas que permitem maiores trocas gasosas aumentou o teor de clorofilas. Zobayed et al. (2002), relatam a importância da troca de ar entre ambiente e frasco e ressalta a capacidade das plantas cultivadas *in vitro* de desenvolver o aparelho fotossintético nessa condição

Quanto à funcionalidade estomática, os melhores resultados foram alcançados pelos morangueiros que permaneceram em frascos com tampas que permitem maiores trocas gasosas (Figura 2 e 3). Os dados do tratamento com 15 g.L⁻¹ em frasco com tampa sem filtro não foram apresentados, pois as imagens obtidas dos estômatos não apresentaram boa qualidade.

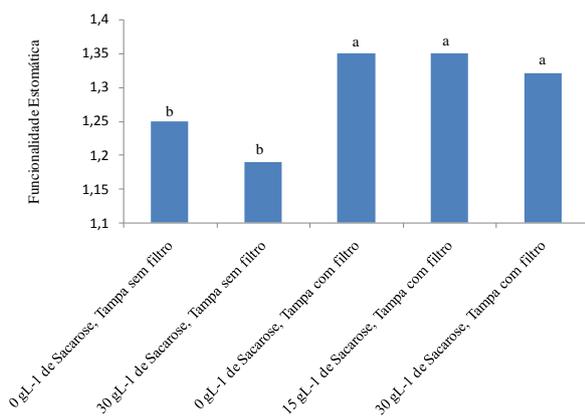


Figura 1. Funcionalidade estomática.

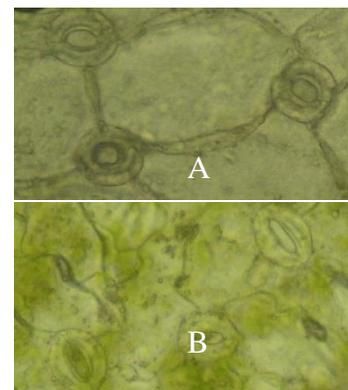


Figura 3. Fotomicrografias de estômatos da face abaxial de folhas de *Fragaria x ananassa*. A: 0 gL⁻¹ de Sacarose, Tampa sem filtro; B: 0 gL⁻¹ de Sacarose, Tampa com filtro

No cultivo *in vitro* convencional, com frascos totalmente vedados e alta concentração de sacarose no meio de cultura, as plantas exibem metabolismo heterotrófico ou mixotrófico (KOZAI, 2010). Além disso, possuem estômatos pouco funcionais (HAZARIKA, 2006).

4. CONCLUSÕES

Concluiu-se que a concentração de sacarose no meio de cultura e a vedação do frasco durante o cultivo *in vitro* são fatores que podem interferir diretamente no teor de clorofila, na formação dos estômatos e na aclimatização de *F. x ananassa*.

AGRADECIMENTOS

IFSULDEMINAS – campus Machado

REFERÊNCIAS

- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24, n.1, p.1-15, 1949.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. Sistema de Produção do Morango: Produção de mudas. 2011. **Embrapa Clima Temperado**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/128281/1/PLANTAR-Morango-ed02-2011.pdf>. Acesso em 23 de julho de 2018.
- DIAS, M. S. C. Cultivares. **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 279, p.39-47, 2014.
- HAZARIKA, B. N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n.2, p. 105-120, 2006.
- KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation - Environmental control for promoting photosynthesis. **Propagation of Ornamental Plants**, v. 10, n. 4, p. 188-204, 2010.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- ZOBAYED, S. M. A.; ZOBAYED, S. M. A.; ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Leaf anatomy of *in vitro* tabaco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. **Plant Science**, v. 161, p. 537-548, 2002.