

USO DE LED BRANCO NO CULTIVO *in vitro* DE MANDACARU

Darlyson Tavares Guimarães¹; Magali Haideé Pereira Martínez¹; Lais Tomaz Ferreira²;
Marina Medeiros de Araújo Silva²

¹Universidade Federal de Campina Grande, darlysonguimaraes@outlook.com; magali_haidee@hotmail.com

²Instituto Nacional do Semiárido, laistomazpe@hotmail.com, marinamedeirosas@yahoo.com.br

Resumo: *Cereus jamacaru* é uma cactácea típica da Caatinga, com importância para a sustentabilidade e conservação deste bioma, e muito explorada para uso ornamental e forrageiro. O cultivo *in vitro* é uma ferramenta biotecnológica que vem sendo aplicada para a germinação, multiplicação e conservação de diferentes espécies de cactáceas nativas, e suas técnicas podem ser aperfeiçoadas através da modificação de alguns fatores, como a qualidade de luz. Esse trabalho objetivou avaliar o uso de duas fontes de luz na germinação *in vitro* e desenvolvimento inicial de plântulas de mandacaru sem espinho. O experimento foi conduzido no Laboratório de cultivo *in vitro* de plantas do INSA, e foi utilizado meio de cultura simplificado (CK), composto pelos fertilizantes Calcinit e Kristalon, e duas diferentes fontes de luz (fluorescente e LED). Os resultados mostraram que ambos os tratamentos apresentaram germinação acima de 72% e que a qualidade e a quantidade luz não influenciaram no processo germinativo. As lâmpadas LEDs propiciaram melhor desenvolvimento das plântulas e menor taxa de perda de água no cladódio quando comparadas ao uso de fluorescentes; no entanto, a fonte de luz não interferiu na taxa de sobrevivência das plantas, que foi de 100% em ambos os tratamentos, após 30 dias de aclimatização. Diante do exposto, o uso de LEDs é vantajoso para o cultivo *in vitro* de mandacaru.

Palavras-chave: biotecnologia, cultura de tecidos vegetais, mandacaru sem espinho, qualidade da luz.

INTRODUÇÃO

A família Cactaceae está distribuída em todo o Brasil, que abriga o terceiro centro de diversidade de cactáceas, com mais de 230 espécies divididas em 34 gêneros, das quais 184 são endêmicas (SILVA et al., 2011). As cactáceas são muito apreciadas como plantas ornamentais e, no Brasil, diversas espécies são cultivadas com esta finalidade, incluindo o mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C.), planta típica da Caatinga, com importância para a sustentabilidade e conservação deste bioma. Seus frutos são consumidos por animais nativos da região e seus caules são utilizados pelos agricultores como forragem para os ruminantes (SILVA et al., 2005). O mandacaru sem espinho é uma cactácea muito procurada para uso ornamental e forrageiro, entretanto, poucas informações existem sobre tal espécie, evidenciando a importância do aumento do conhecimento sobre a sua biologia reprodutiva e propagação vegetativa (CORREIA et al., 2011).

Mudas de cactáceas podem ser produzidas via sementeira, estaquia, enxertia ou, ainda, por cultivo *in vitro* (PÉREZ-MOLPHE-BALCH et al., 2015). Este último pode ser definido como o cultivo em ambiente artificial, sob condições assépticas e controladas, de células vegetais isoladas, tecidos ou órgãos, que podem dar origem a plantas inteiras. Suas técnicas podem ser amplamente utilizadas para o estudo do metabolismo, fisiologia, desenvolvimento e propagação de plantas com propriedades desejáveis (LAKSHMANA et al., 2005; POLESI, 2010). Para as cactáceas, tal ferramenta biotecnológica vem sendo aplicada em estudos de germinação, multiplicação e conservação de diferentes espécies, incluindo aquelas nativas e adaptadas ao Semiárido brasileiro (SILVA; FERREIRA, 2016).

Diversos fatores podem influenciar no êxito do cultivo *in vitro*, como por exemplo a fonte de iluminação empregada no ambiente de cultivo, dentro dos laboratórios. Os diodos emissores de luz (LEDs) vêm apresentando resultados positivos para diferentes espécies cultivadas *in vitro* (GUPTA; JATOTHU, 2013) e se destacando em relação as demais fontes de luz por possuírem alta eficiência no processo de geração de luz com baixa produção de calor, longo período de vida, comprimento de onda específico, massa e volume reduzidos (ROCHA et al, 2010). No entanto, estudos envolvendo o uso de LEDs no cultivo *in vitro* de cactáceas ainda são escassos. No caso do mandacaru, tal investigação torna-se ainda mais relevante, uma vez que esta espécie, considerada fotoblástica positiva (MEIADO et al., 2010), pode ser influenciada pela qualidade da luz. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de duas fontes de luz na germinação *in vitro* e desenvolvimento inicial de plântulas de mandacaru sem espinho.

METODOLOGIA

Frutos foram coletados de plantas sem espinhos (Figura 1A e B), mantidas na área da Estação Experimental do INSA. A extração das sementes foi realizada mediante a abertura dos frutos e retirada da polpa, a qual foi friccionada em uma peneira metálica sob água corrente até ser eliminada. As sementes (Figura 1C) foram, então, lavadas com detergente neutro e desinfestadas por imersão em álcool 70% durante um minuto e em hipoclorito de sódio (NaOCl 5%) adicionado de 0,5 mL de Tween 20, onde permaneceram sob agitação durante 15 minutos. Em câmara de fluxo laminar, procedeu-se o tríplice enxágue em água destilada estéril (Figura 1D) e a inoculação das sementes em meio de cultura simplificado (CK), composto pelos fertilizantes solúveis Calcinit e Kristalon, adicionados de vitaminas, 100 mg L⁻¹ de inositol e 30 g L⁻¹ de sacarose. O meio teve o pH ajustado para 5,8, foi gelificado com 6 g L⁻¹ de ágar, distribuído em frascos e, em seguida, esterilizado em autoclave (120 °C e 1 atm, por 20 minutos).

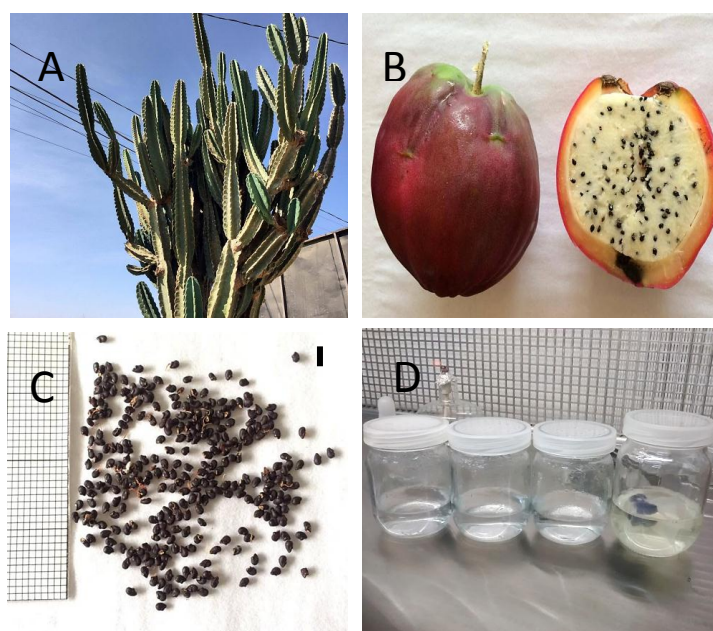


Figura 1. Introdução de *Cereus jamacaru* ao cultivo *in vitro*: (A) Planta adulta sem presença de espinhos; B) Fruto utilizado para retirada das sementes; C) Sementes após retirada da polpa e lavagem; D) Assepsia das sementes em câmara de fluxo laminar. Barra = 5 mm.

Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, sob fotoperíodo de 16 h de luz, temperatura de 25 ± 2 °C e expostos a duas diferentes fontes de luz: lâmpadas fluorescentes brancas (FL) e diodos emissores de luz brancos (LED), com intensidades luminosas de 47 e 50 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, respectivamente. Os percentuais de germinação e contaminação foram avaliados semanalmente durante 80 dias, sendo realizado um subcultivo para o mesmo meio aos 40 dias. Ao final do período de cultivo *in vitro*

foram realizadas avaliações biométricas; para tanto, com o auxílio de uma régua milimetrada foram medidas a altura e o diâmetro do cladódio, e o comprimento da raiz principal. A massa da matéria fresca da parte aérea e radicular foi obtida em balança analítica, enquanto a matéria seca foi obtida após a secagem em estufa (65 °C) e posterior pesagem. Também foi obtida a taxa de perda de água (TPA) nos cladódios após a saída do cultivo *in vitro*, segundo a metodologia de Dami e Hughes (1995).

Parte das plântulas obtidas foi aclimatizada em casa de vegetação, em bandejas de polietileno contendo substrato Basaplant (Base[®]), com rega semanal, onde permaneceu por 30 dias para a verificação da taxa de sobrevivência.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Foram estudados dois tratamentos (fontes de luz), com 10 repetições cada, sendo cada repetição composta por um frasco contendo 10 sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ambos os tratamentos de luz propiciaram taxas de germinação acima de 72% aos 40 dias de cultivo *in vitro* (Tabela 1, Figura 2A). O LED resultou num percentual de germinação semelhante ao que foi obtido em FL, demonstrando que, neste caso, a qualidade e a quantidade luz não influenciaram no processo germinativo.

Tabela 1. Percentual de germinação e contaminação de *Cereus jamacaru* aos 15, 30 e 40 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes fontes de luz.

Tratamentos	Germinação (%)			Contaminação (%)		
	15	30	40	15	30	40
FL + CK	66	72	74	6	6	7
LED + CK	66	72	72	0	23	51

Ao estudar o efeito da qualidade da luz, Meiado et al. (2010) verificaram que tal fator não interferiu na germinabilidade de *C. jamacaru*, mas favoreceu o tempo médio e a sincronização da germinação natural, especialmente com o uso da luz fluorescente branca em relação à fluorescente nas cores vermelho, vermelho-distante e azul. Alencar et al. (2012), estudando a combinação dos fatores luz e temperatura na germinação desta mesma espécie,

também relataram que a qualidade da luz (fluorescente branca e vermelha) não interferiu na taxa de germinação, contrariamente a temperatura. Estudos relacionados à germinação de cactáceas frente ao espectro emitido por lâmpadas de LED não foram encontrados, contudo, resultados positivos têm sido relatados para diferentes espécies cultivadas *in vitro* (GUPTA; JATOTHU, 2013).

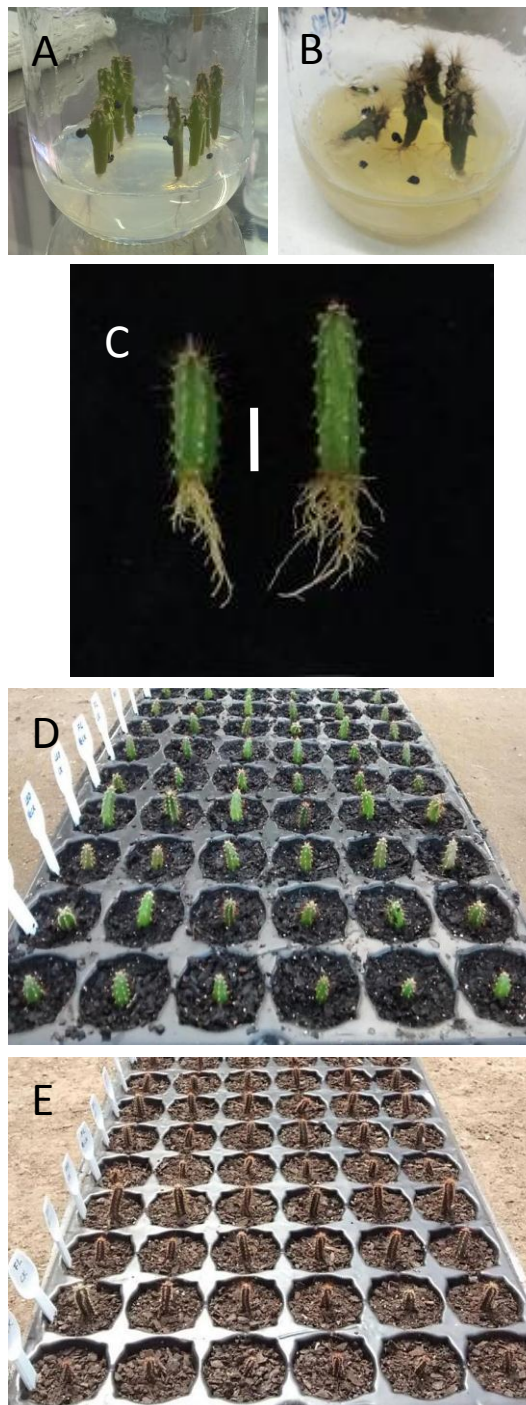


Figura 2. Cultivo *in vitro* de *Cereus jamacaru*: A) Plantas germinadas após 40 dias de cultivo; B) Presença de bactérias, possivelmente endofíticas, no meio de cultura; C) Aspecto das plântulas cultivadas sob FL (esquerda) e LED (direita) após 80 dias de cultivo; D) Início da aclimatização das plântulas; E) Plântulas aclimatizadas aos 30 dias. Barra = 1 cm.

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

Quanto à contaminação, o maior percentual observado foi no tratamento LED, onde pouco mais da metade das sementes inoculadas apresentou contaminação bacteriana até os 40 dias de cultivo *in vitro* (Tabela 1, Figura 2B). Ressalta-se que para os dois tipos de luz utilizados, a contaminação foi decorrente de bactérias, provavelmente endofíticas, não interferindo na germinação das sementes. Lima et al. (2015) identificaram a presença de uma colonização natural de bactérias endofíticas em microplantas de *C. jamaru* cultivadas *in vitro* em meio JADS, e afirmaram que tais microrganismos não exibem efeitos adversos sobre a espécie.

O percentual de hipoclorito de sódio utilizado (5%) foi eficiente na remoção de possíveis contaminantes fúngicos e não ocasionou fitotoxicidade, contrariamente ao relatado por Rêgo et al. (2009) que, ao utilizarem hipoclorito de sódio 2%, obtiveram 60% de contaminação e redução da taxa de germinação para esta mesma espécie. Já Martínez et al. (2016), observaram que o uso de desinfestantes em concentração mais baixa (1,25%) não foi eficiente para eliminar os contaminantes superficiais (exógenos) presentes nas sementes de mandacaru, enquanto o hipoclorito de sódio 2,5% apresentou percentual de contaminação de 20%, também decorrente de bactérias endofíticas. A ação do hipoclorito de sódio se dá pela entrada na parede celular do microrganismo (fungo ou bactéria), causando alterações no metabolismo celular e morte do agente infestante (ESTRELA et al., 2002).

De modo geral, as plântulas expostas à ação das lâmpadas LED apresentaram maior altura e massa fresca da parte aérea (Tabela 2, Figura 2C). Estrada et al. (2016) estudando o cultivo *in vitro* de *Anthurium andreanum*, obtiveram maior altura da parte aérea para as plantas expostas aos LEDs brancos em relação a FL. De acordo com Rocha et al. (2010), a menor eficiência no crescimento das plantas na presença de lâmpadas fluorescentes decorre do fato destas emitirem diferentes comprimentos de onda entre 350 e 750 nm, enquanto somente aqueles entre 400 e 700 nm são considerados importantes para a fotossíntese e fotomorfogênese. Este é um fator relevante, uma vez que um cladódio melhor desenvolvido pode favorecer a sobrevivência da planta caso esta venha a ser aclimatizada, bem como possibilitar a extração de um maior número de explantes, caso a planta obtida seja utilizada como matriz para a fase de multiplicação *in vitro*.

Tabela 2. Efeito da fonte de luz no desenvolvimento da parte aérea e das raízes de plântulas de mandacaru (*Cereus jamacaru*) após 80 dias de cultivo *in vitro* e após 30 dias de aclimatização.

Variáveis	Fonte de luz	
	FL	LED
Altura (cm)	1,76 b	2,34 a
Diâmetro (cm)	0,58 b	0,70 a
CRP (cm)	1,75 a	2,27 a
MFPA (g)	0,37 b	0,55 a
MFR (g)	0,038 b	0,053 a
MSPA (g)	0,012 b	0,017 a
MSR (g)	0,002 b	0,004 a
Sobrevivência (%)	100	100

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Comprimento da raiz principal (CRP), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca das raízes (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR).

Quanto ao diâmetro dos cladódios, não houve diferença entre os tratamentos, diferente do que foi observado para o desenvolvimento radicular (Tabela 2). Para o comprimento da raiz principal e massa fresca da raiz, valores inferiores foram encontrados em plantas cultivadas em FL, podendo-se inferir que o tipo de luz utilizada interferiu no desenvolvimento das raízes. Para a massa seca da parte aérea e radicular, melhores resultados foram encontrados nas plântulas submetidas aos LEDs, demonstrando o efeito da qualidade da luz e da disponibilidade de nutrientes no acúmulo de massa seca em plantas cultivadas *in vitro*. Resultado semelhante foi obtido por Assis (2015) que concluiu que houve um aumento no acúmulo de biomassa em plantas de *Solidago canadensis* cultivadas sob iluminação com lâmpadas de LED. Os resultados obtidos neste trabalho deixam evidentes que a qualidade da luz interfere de modo positivo no crescimento e desenvolvimento de *C. jamacaru*.

Quanto a taxa de perda de água nos cladódios, o LED também propiciou efeito positivo (Figura 3). As plantas mantidas sob esta fonte de luz perderam menor quantidade de água por transpiração ao longo de 150 minutos quando comparadas com aquelas mantidas sob lâmpadas fluorescentes. Tal resultado pode favorecer o processo de aclimatização, conforme observado por Ferreira et al. (2016) ao utilizar LED vermelho e azul no cultivo *in vitro* da cana-de-açúcar.

Posteriormente, as plantas obtidas foram levadas ao ambiente *ex vitro* para a etapa de aclimatização (Figura 2D) e, nesta fase, foi possível observar taxa de sobrevivência de 100%, após 30 dias (Figura 2E), para as plantas dos dois tratamentos de luz utilizados durante o *in vitro*. A aclimatização é a etapa mais crítica do cultivo *in vitro* e pode comprometer a produção das mudas de algumas espécies, uma vez que as plantas são expostas a mudanças drásticas no que se refere às condições ambientais, sendo a perda de água um dos principais problemas (ROCHA et al., 2008). No entanto, a aclimatização de diferentes espécies de cactáceas tem sido realizada com êxito, obtendo-se taxa de sobrevivência, geralmente, entre 80 e 100% (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014; SOUZA et al., 2015). De acordo com Malda et al. (1999), a suculência do caule dos cactos representa um atributo positivo que minimiza o estresse ocasionado na planta durante esta etapa.

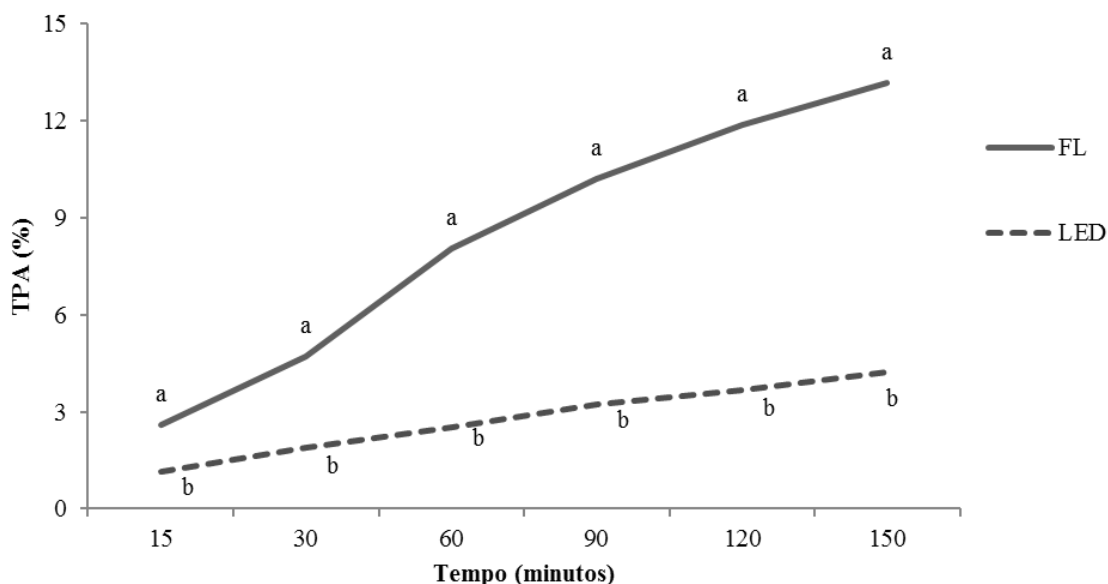


Figura 3. Taxa de perda de água (TPA) ao longo do tempo em cladódios de mandacaru (*Cereus jamacaru*) recém saídos do cultivo *in vitro*.

CONCLUSÃO

O uso de LEDs é uma alternativa vantajosa para o cultivo *in vitro* de mandacaru, já que apresentou alto percentual de germinação das sementes, apesar do alto índice de contaminação. As plântulas expostas as LEDs também apresentaram melhor desenvolvimento inicial, assim como menor taxa de perda de água. Para a aclimatização, não ocorreu diferença para o tipo de luz utilizada, já que todas as plantas sobreviveram após aclimatizadas por 30 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, N.L.M.; GOMES-FIHO, E.; INNECCO, R. *Cereus jamacaru* seed germination and initial seedling establishment as a function of light and temperature conditions. **Scientia Agricola**. v.69, n.1, p.70-74. 2012.

ASSIS, T.R. **Uso de lâmpadas de diodo emissor de luz 'LED' no controle do florescimento em plantas de Tango (*Solidago canadensis* L.) e Hipérico (*Hypericum inodorum*)**. Viçosa, 2015. 62p.

CORREIA, D. et al. Germinação de sementes de cactáceas *in vitro* (**Comunicado Técnico 181**). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 6p.

DAMI, I.; HUGHES, H. Leaf anatomy and water loss of *in vitro* PEG-treated 'Valiant' grape. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.42, n.2, p.179-184, 1995.

ESTRADA, E.M. et al. Light emitting diodes improve *in vitro* shoot multiplication and growth of *Anthurium andreaeanum* lind. **Propagation of Ornamental Plants**, v.16, n.1, p.3-8, 2016

ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A.; BARBIN, E.L. Mechanism of action of Sodium Hypochlorite. **Braz. Dent. J.**, v.13, n.13, p.113-117, 2002.

FERREIRA, D.F.S. A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, L.T. et al. Using LED lighting in somatic embryogenesis and micropropagation of an elite sugarcane variety and its effect on redox metabolism during acclimatization. **Plant cell, tissue and organ culture (PCTOC)**. online, p.1-11, 2016.

GUPTA, S.D.; JATOTHU, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. **Plant Biotechnol Rep.**, v.7, p.211220, 2013.

LAKSHMANAN, P. et al. Sugarcane biotechnology: the challenges and opportunities. *In vitro* cellular and Developmental **Biology – Plant**, v.41, p.345-363, 2005.

LEMA-RUMINSKA, J.; KULUS, D. Micropropagation of Cacti – A Review. **Haseltonia**, v.17, p.46-63, 2014.

LIMA, J.V.L. et al. Endophytic bacteria in cacti native to a Brazilian semi-arid region. **Plant Soil**, v.389, p.25-33, 2015.

MEIADO, M.V. et al. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. **Plant Species Biology**. v.25, p.120128, 2010.

MARTÍNEZ, M.H.P. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de Mandacaru sem espinho. In: CONAPESC, 2016, Campina Grande. **Anais I CONAPESC**, Editora Realize, v.1, Campina Grande, 2016. 5p.

PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E. et al. Tissue culture of ornamental cacti. **Scientia Agrícola**, v.72, n.6, 2015.

POLESI, N.P.E. **Investigação da microbiota endofítica onipresente em microplantas “axênicas”**. 2010. Dissertação de mestrado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2010. 120 p.

RÊGO, M.M. et al. *In vitro* seed germination of mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.). **Revista Caatinga**, v.22, n.4, p.3438, 2009.

ROCHA, P.S.G. et al. Diodos emissores de luz e concentrações de BAP na multiplicação *in vitro* de morangueiro. **Ciência Rural**, v.40, p.1922- 1928, 2010.

ROCHA, M.A.C. et al. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de genótipos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.769774, 2008.

SILVA, M.M.A.; FERREIRA, L.T. **Cultivo *in vitro* de plantas e suas aplicações em cactáceas**. Campina Grande: INSA, 2016. 32p.

SILVA, S.R. et al. **Plano de ação nacional para conservação das cactáceas**. Brasília: ICMBio, 2011. 113p.

SILVA, J.G.M. et al. Xiquexique em substituição a silagem do sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1408-1417, 2005.

SOUZA, L.M.; SILVA, M.M.A.; ARAÚJO, J.S. **Aclimatização de mudas de palma forrageira. Como fazer?** Campina Grande: Insa/MCTI, 2015. 18p.