

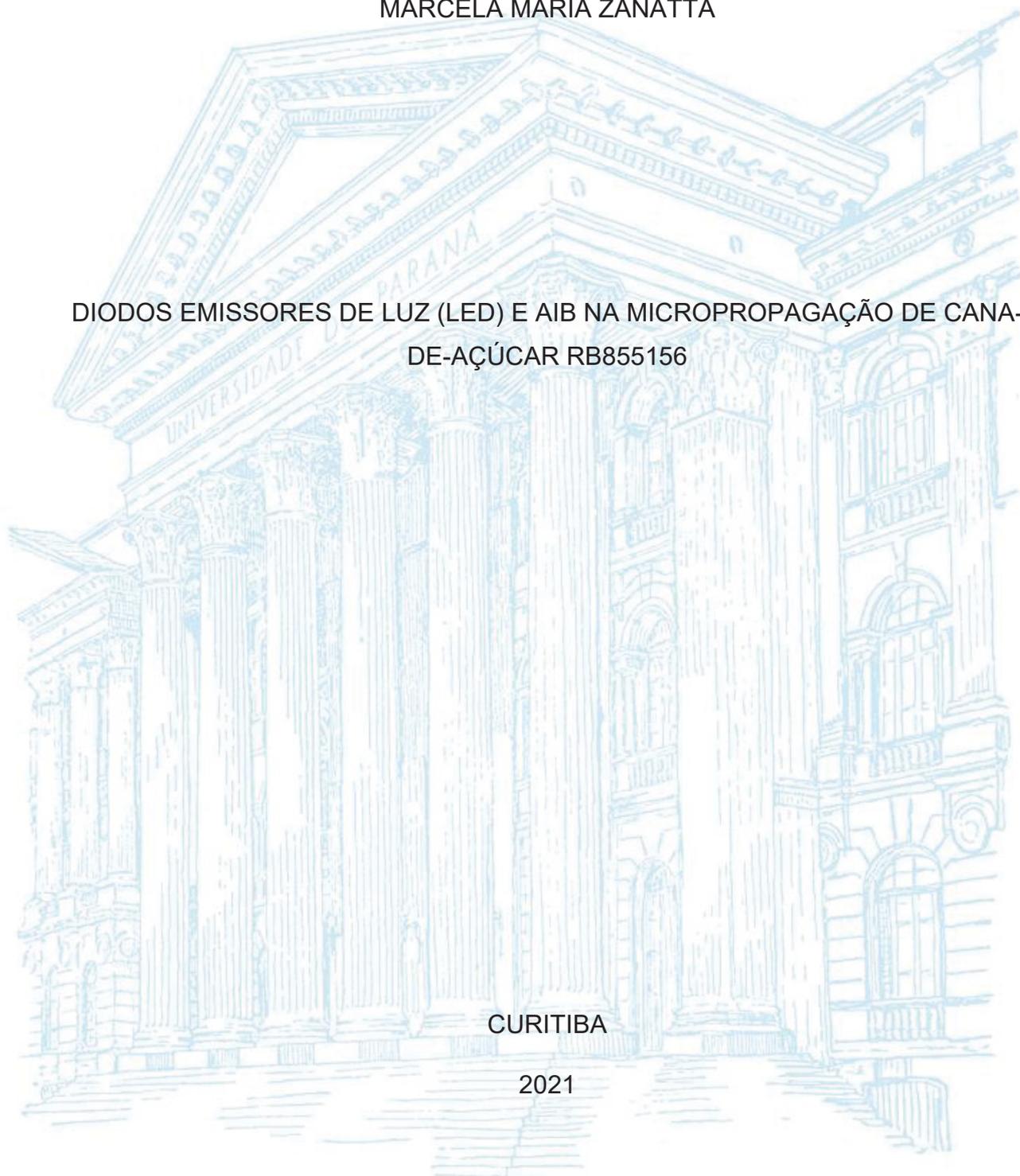
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELA MARIA ZANATTA

DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E AIB NA MICROPROPAGAÇÃO DE CANA-
DE-AÇÚCAR RB855156

CURITIBA

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELA MARIA ZANATTA

DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E AIB NA MICROPROPAGAÇÃO DE CANA-
DE-AÇÚCAR RB855156

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Bernalhok Filho

CURITIBA

2021

Zanatta, Marcela Maria

Diodos emissores de luz (LED) e AIB na micropropagação de cana-de-açúcar RB855156. - Curitiba, 2021.

65f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Bepalhok Filho

1. Cana-de-açúcar - cultivo. 2. *Saccharum spp.* 3. Micropropagação. I. Bepalhok Filho, João Carlos. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MARCELA MARIA ZANATTA** intitulada: **DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E AIB NA MICROPROPAGAÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR RB855156**, sob orientação do Prof. Dr. JOÃO CARLOS BESPALHOK FILHO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 04 de Outubro de 2021.

Assinatura Eletrônica

04/10/2021 17:05:35.0

JOÃO CARLOS BESPALHOK FILHO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

04/10/2021 16:53:18.0

GIOVANA BOMFIM DE ALCANTARA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

13/10/2021 13:34:55.0

DENISE SCHMIDT

Avaliador Externo (42002010)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80035-050 - Tel: (41) 3350-5601 - E-mail: pgapv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 116879

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 116879

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde, por eu e minha família termos conseguido vencer a covid. Foram dias assustadores, mas passaram. A lição que fica é a de que a vida é tão rara!

A minha família que com tanto amor e admiração continuam me apoiando nesta jornada árdua da pesquisa, principalmente aos meus pais (Adriana e Cleomar), sem o apoio de vocês eu não teria superado tantos desafios e não teria chegado até aqui. Vocês são meu combustível.

Ao meu orientador, Professor Dr. João Carlos Bernaldo Filho, por desde o primeiro dia que me viu me estendeu a mão e caminhou comigo, me orientando, me acalmando quando tudo parecia assustador e me fazendo ver que o lado mais bonito do pesquisador é o lado humano que carregamos conosco. Obrigada professor!

À Professora Dr. Giovana Bomfim por me acolher no seu time, por estar sempre disponível como amiga, me fazendo ver os vários caminhos que sou capaz de trilhar e me encorajando a buscar novos desafios.

Aos amigos, os anjos que Deus colocou na minha vida, vocês tiveram participação nesta fase e cada um de vocês foram essenciais para que eu conseguisse seguir em frente nessa jornada. Obrigada amigos!

A equipe do laboratório de micropropagação da UFPR por tantos ensinamentos compartilhados e tantos desafios que superamos juntos. Obrigada Mari, Laudi, Anabel, Tati, Grace, Ju sem vocês eu não teria conseguido.

Aos amigos da UFSM onde foi o início da minha jornada na agronomia, minha gratidão eterna a vocês, obrigada mestres queridos da UFSM principalmente à Professora Dr. Denise Schimidt que me deu o empurrãozinho de seguir meus sonhos. Eu te admiro e me espelho em ti. Obrigada também por ceder as instalações do laboratório de extrativos aromáticos (LEA) em tempos difíceis.

A minha amiga e irmã de jornada Bruna. Você com toda certeza foi um dos anjos mais lindos que Deus colocou na minha vida e na minha jornada, você faz com que o fardo fique mais leve pois eu sei que tu me ajudas a carregar.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado, a qual foi fundamental para realização deste trabalho.

À secretária do PGAPV, Lucimara Antunes, pela amizade, pelos conselhos e por todo auxílio prestado quanto à parte burocrática da pós-graduação.

A todos que contribuíram para a concretização deste trabalho que me ensinou muito sobre pesquisa e sobre a vida.

*“Quando os ventos de mudança sopram, umas pessoas levantam barreiras,
outras constroem moinhos de vento” - Érico Veríssimo.*

RESUMO

A cana-de-açúcar está entre as culturas mais importantes do Brasil, o qual é protagonista na produção mundial de bioetanol e açúcar. Visando a necessidade de obtenção de mudas com qualidade superior, a micropropagação aparece como uma técnica amplamente utilizada para atender à demanda do setor sucroalcooleiro. O isolamento e a cultura de meristemas possibilitam a obtenção de propágulos vegetais com baixos índices de perdas por contaminações e a reprodução fiel de características genéticas da planta-mãe. O uso de diferentes qualidades de lâmpadas de diodo emissor de luz (LED) pode influenciar positivamente no cultivo *in vitro* de diversas espécies vegetais. O objetivo deste trabalho foi o estabelecimento de um protocolo de micropropagação a partir do isolamento de meristemas para a variedade RB855156 de cana-de-açúcar sob a influência de diferentes qualidades de luz. Auxiliando assim a produção de mudas sadias, através da análise dos pigmentos fotossintéticos e também o enraizamento e desenvolvimento associados a diferentes concentrações de regulador de crescimento (AIB) sob o efeito das diferentes qualidades de luz. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micropropagação da Universidade Federal do Paraná (UFPR) com material vegetal da variedade RB855156. Foram testadas no primeiro experimento na fase de multiplicação dos meristemas diferentes qualidades de luz com intensidades luminosas distintas (LEDs branco; LEDs vermelho; LEDs azul; LEDs verde e LEDs amarelo) em meio MS suplementado com 0,1 mg L⁻¹ de cinetina e 0,2 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP) acrescido com sacarose (30 g L⁻¹). Após 31 dias foi avaliado para o primeiro experimento a taxa de brotação. No segundo experimento, na fase de enraizamento, foram testadas as mesmas qualidades de luz do primeiro experimento, associadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) (0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1 mg L⁻¹). Após 21 dias foram avaliadas as seguintes variáveis: taxa de brotação, comprimento de parte aérea (cm), comprimento da maior raiz (cm), massa fresca e seca de raiz (g), massa fresca e massa seca de parte aérea (g), pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides). Para o primeiro experimento, o uso da lâmpada LED amarela proporcionou um aumento na indução de brotações em meio MS. Para os pigmentos fotossintéticos, clorofila total apresentou teores mais elevados para lâmpadas LED branca, enquanto os carotenoides foram significativos para lâmpadas LED branca e LED azul. O segundo experimento apresentou interação dos fatores apenas para comprimento de parte aérea, em LED amarela e LED azul, nas concentrações de 0 mg L⁻¹ e 0,50 mg L⁻¹ de AIB, e massa fresca de parte aérea com a LED amarela e LED branca, na ausência de AIB, bem como a lâmpada LED amarela. A massa fresca e seca de raiz foi superior com o uso de lâmpadas LED amarela. O desempenho da lâmpada LED amarela foi satisfatório para o número de brotações e massa seca de parte aérea. Os resultados sugerem que a lâmpada LED amarela foi adequada para o crescimento e desenvolvimento das plantas e torna-se uma opção de fonte de luz alternativa para a micropropagação da variedade de cana-de-açúcar RB855156.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., luminosidade, meristema, ácido indolbutírico.

ABSTRACT

Sugarcane is one of the most important crops in Brazil, which is a protagonist in the world production of bioethanol and sugar. Aiming the necessity of seedlings with higher quality, micropropagation appears as a widely used technique to attend sugar and alcohol sector demand. Isolation and culture of meristems enable the obtainment of plant propagules with low rates of contamination losses and a faithful reproduction of genetic of the mother plant. The use of different qualities of light emitting diode (LED) lamps can positively influence the *in vitro* cultivation of several plant species, as they provide desirable characteristics for plant growth and development. In this context, this work aimed to establish a micropropagation protocol for the sugarcane variety RB855156 under the influence of different light qualities. Thus, helping the production of healthy seedlings, through the analysis of photosynthetic pigments and also, rooting and development associated with different concentrations of growth regulator (IBA) and under the effect of different light qualities. The experiments were conducted at the Micropropagation Laboratory of the Federal University of Paraná (UFPR) with plant material of variety RB855156. In the first experiment, in the multiplication stage, different light qualities with different light intensities were tested (white LEDs; red LEDs; blue LEDs; green LEDs and yellow LEDs) in MS 0.1 mg L⁻¹ of kinetin and 0.2 mg L⁻¹ of benzylaminopurine (BAP) supplemented with sucrose (30 g L⁻¹). After 31 days, the sprouting rate was evaluated for the first experiment. In the second experiment, at the rooting stage, the same light qualities of the first experiment were tested, associated with different concentrations of indolebutyric acid (IBA) (0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1 mg L⁻¹). After 21 days, the following variables were evaluated: sprouting rate, length of aerial part (cm), length of the longest root (cm), fresh mass and dry mass of root (g), fresh mass and dry mass of aerial part (g), photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll and carotenoids). For the first experiment, the use of the yellow LED lamp provided an increase in shoot induction per explant in MS medium. There were no statistical differences between treatments for the average number of roots. For photosynthetic pigments, total chlorophyll had higher contents for white LED lamps, while carotenoids were significant for white LED and blue LED lamps. The second experiment showed factors interactions only for the aerial part length in yellow and blue LED at concentrations of 0 mg L⁻¹ and 0.50 mg L⁻¹ of IBA, and fresh mass of aerial part yellow and white LED in the absence of IBA (0 mg L⁻¹). The concentration of 0.50 mg L⁻¹ promoted the longest root length, as well as the yellow LED lamp. Fresh and dry root mass was prominent when using yellow LED lamps. The performance of the yellow LED lamp was satisfactory for number of shoots per explant and shoot dry mass. The results suggest that the quality of light emitted by LEDs, mainly yellow LED lamps, was adequate for plant growth and development and is an alternative and alternative light source option for the micropropagation of the sugarcane variety RB855156.

Keywords: *Saccharum* spp., luminosity, meristem, indole butyric acid.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

® - Marca registrada

AIA - ácido 3-indolacético

AIB - ácido indolbutírico

ANA - ácido naftalenoacético

BAP - 6-benzilaminopurina

cm³ - centímetro(s) cúbico

cv. - cultivar(es)

chl *a* – clorofila *a*

chl *b* – clorofila *b*

g - grama(s)

g L⁻¹ - grama(s) por litro

GA- giberelina

L - litro(s)

mg - miligrama(s)

mg L⁻¹ - miligrama(s) por litro

min - minuto(s)

mL - mililitro(s)

mm - milímetro(s)

mol.m⁻².s⁻¹ - mol(es) por metro quadrado por segundo

MS - Meio de cultura Murashige e Skoog (1962)

°C - grau(s) Celsius

μM - micromolar

μmol.m⁻².s⁻¹ - micromol(es) por metro quadrado por segundo

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.1 Cana-de-açúcar | 15 |
| 2.2 Micropropagação | 16 |
| 2.3 Cultura de Meristemas..... | 18 |
| 2.4 Fatores que afetam a micropropagação | 20 |
| 2.5 Qualidade Espectral..... | 23 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 27 |
| 3.1 Local de realização, origem do material e assepsia..... | 27 |
| 3.2 Multiplicação das brotações..... | 28 |
| 3.3 Enraizamento das plântulas..... | 31 |
| 3.4 Análise estatística | 32 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 32 |
| 4.1 Multiplicação das Brotações | 32 |
| 4.2 Pigmentos Fotossintéticos | 35 |
| 4.3 Qualidade de Luz x AIB | 39 |
| 5 CONCLUSÕES | 49 |
| REFERÊNCIAS | 50 |
| ANEXOS | 63 |
| ANEXO 1 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE NÚMERO DE BROTAÇÕES POR EXPLANTES (NBE) E MÉDIA DO NÚMERO DE MAIOR RAIZ (CM) DE CANA-DE-AÇÚCAR DA VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS <i>IN VITRO</i> EM TIPOS DE LED..... | 63 |
| ANEXO 2 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICO ANALISADOS DE CANA-DE-AÇÚCAR DA VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS <i>IN VITRO</i> EM TIPOS DE LED..... | 63 |
| ANEXO 4 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE COMPRIMENTO DE MAIOR RAIZ (CMR) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA. UFPR, CURITIBA/PR, 2021. | 63 |

| | |
|--|----|
| ANEXO 5- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PESO SECO DE RAIZ (PSR) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021..... | 64 |
| ANEXO 6- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE BROTAÇÃO (cm) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021..... | 64 |
| ANEXO 7 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE COMPRIMENTO DE PARTE AÉREA (cm) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021. | 64 |
| ANEXO 8 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PESO FRESCO DE PARTE AÉREA (g) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021. | 65 |
| ANEXO 9- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PESO SECO DE PARTE AÉREA (g) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021..... | 65 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar está entre as culturas mais importantes do Brasil, o qual é protagonista na produção mundial desta commodity. São mais de 10 milhões de hectares espalhados pelo país, sendo o segundo produtor mundial a Índia (FAO, 2020). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, a estimativa para a produção de açúcar no Brasil foi de 41,25 milhões de toneladas na safra dos anos 2020/2021 (CONAB, 2020).

O sucesso de uma lavoura está altamente associado ao estande inicial de plantas, ou seja, é interessante que este estande após o plantio apresente poucas falhas nas linhas de plantio. A forma de propagação das lavouras de cana-de-açúcar em sua maioria é por toletes (parte do colmo que contém gemas) que em boas condições podem se desenvolver, mas caso contrário, podendo ser porta de entrada para patógenos (PINTO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018; JESUS et al., 2019; NICCHIO et al., 2020).

O melhoramento genético da cana-de-açúcar focou no desenvolvimento de variedades que apresentem um alto rendimento de sacarose tanto para a produção de etanol quanto de açúcar (BARBOSA et al., 2015, CARNEIRO et al., 2015, SILVEIRA et al., 2016). A variedade RB855156 resultou de um cruzamento biparental (RB72454 x TUC71-7) e foi liberada no ano de 1995, sendo reconhecida por sua precocidade na maturação, além de apresentar ótima brotação de soqueira e média exigências de condições ambientais. Segundo a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA), na safra 2017/18 em uma área de cobertura de aproximadamente 5 milhões de hectares, dentre as dez variedades de cana-de-açúcar mais cultivadas no Brasil, a variedade RB855156 teve participação de 5% em área cultivada, sendo uma das principais variedades para colheita no início de safra no Centro Sul do Brasil (RIDESA, 2020).

Para a propagação da cana-de-açúcar, a técnica de micropropagação torna-se uma valiosa ferramenta biotecnológica, pois é possível produzir mudas sadias, livre de doenças, em larga escala, em tempo e espaço reduzidos (CIDADE et al., 2006; PALÚ et al., 2011). A micropropagação, além da possibilidade de fornecer mudas sadias para início do estande da lavoura, pode também promover o rejuvenescimento,

mas isto se aplica melhor em espécies mais lenhosas e não cabe muito a espécies de ciclo curtos com sucessivos subcultivos, associados ao uso de reguladores de crescimento (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Um dos métodos mais viáveis para obter material sadio é a micropropagação a partir de meristemas, em que são cultivados ápices caulinares extraídos da planta mãe. Cada ápice contém uma cúpula meristemática apical com células indiferenciadas e isso faz com que haja pouca possibilidade de presença de patógenos. Além disso, reproduzem plantas fenotipicamente semelhantes à planta mãe (ALI et al., 2008; GEORGE et al., 2008; ALCANTARA et al., 2014).

O ambiente *in vitro* ideal para a execução da técnica de micropropagação só é possível se algumas condições estejam em conformidade para que a planta tenha boa performance, entre as quais destaca-se o meio de cultura que será a fonte nutritiva para a planta, a temperatura adequada para sua manutenção e a qualidade da luz.

A morfogênese das plantas cultivadas *in vitro* é altamente influenciada pela luz, ou seja, o comprimento de onda específico, a densidade do fluxo de fótons e o fotoperíodo (LIAN et al., 2002). A fonte de iluminação mais comum usada no ambiente da sala de crescimento dos laboratórios de micropropagação é a lâmpada fluorescente branca - fria, porém mais recentemente vêm sendo adotado o uso de lâmpadas LED (diodo emissor de luz) como fonte alternativa de luz por diversas vantagens sobre o sistema convencional (FAÇANHA et al., 2018).

Essa tecnologia de iluminação com o uso de lâmpadas LED vem ganhando espaço no cultivo *in vitro* de várias espécies pois trazem como vantagens o controle do espectro de luz emitido, baixo consumo de energia elétrica e sua maior durabilidade. Além disso, devido às propriedades espectrais é possível regular as respostas morfogênicas *in vitro* como variações anatômicas, morfológicas e atributos fisiológicos como formação de brotos axilares, alongamento, rizogênese, alguns aspectos da anatomia foliar e também, habilidades fotossintéticas (GUPTA & JATOTHU, 2013; FAÇANHA et al., 2018).

É importante que sejam adotadas tecnologias que possam vir a ser eficazes na micropropagação em relação a um desempenho satisfatório das mudas produzidas. Respostas distintas dependendo do comprimento de onda que a planta recebe com o uso das lâmpadas LED, associado aos reguladores de crescimento, possibilitam

algumas respostas que poderão ser aplicadas na produção de mudas de cana-de-açúcar, dependendo do objetivo a ser alcançado e facilitando assim, o processo como um todo, principalmente na obtenção de um protocolo mais alinhado que possa ser seguido na obtenção de mudas saudáveis.

Ainda há pouca informação sobre o desempenho da cana-de-açúcar exposta a diferentes fontes luminosas. Portanto, é importante que se avaliem os efeitos de possíveis combinações de lâmpadas LEDs no porte das mudas, no número de brotações e em possíveis alterações morfológicas. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo estabelecimento de um protocolo de micropropagação por meio do isolamento de meristemas para a variedade RB855156 de cana-de-açúcar sob a influência de diferentes qualidades de luz, e enraizamento e desenvolvimento dos explantes associados a diferentes concentrações de regulador de crescimento (AIB).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

É sabido que um dos principais entraves da cultura da cana-de-açúcar são as mudas que, em sua maioria, são facilmente infectadas por agentes patológicos pois no método convencional sua propagação é feita por colmos, o que facilita a entrada de agentes patológicos (ALI, 2008). Para a propagação da cana-de-açúcar a micropropagação apresenta valiosas ferramentas pois é possível produzir mudas saudáveis em larga escala, em tempo e espaço reduzidos (CIDADE et al., 2006).

A cultura de tecidos utilizando a cana-de-açúcar teve início em 1964 por Nickell que induziu raízes em calos. Mais tarde, em 1969, Barba & Nickell; Heinz & Mee regeneraram plantas completas de cana-de-açúcar a partir de calos. Vários outros trabalhos surgiram nas décadas seguintes em diferentes campos de aplicação da cultura de tecidos (LEMOS, 2013).

Para que a demanda do setor sucroalcooleiro seja atendida é necessário otimizar a produção de mudas, e para isso, a micropropagação com ênfase no isolamento e cultura de meristemas, pode potencializar a produção de mudas saudáveis em um menor espaço de tempo (EMBRAPA, 2011).

2.2 Micropropagação

A micropropagação é uma alternativa para a produção em larga escala de plantas saudáveis e tem como base a teoria da totipotência em que células únicas são capazes de regenerar um organismo inteiro (DOGAN, 2019). Vem sendo muito estudada e aplicada para várias espécies vegetais hortícolas (abacaxi, morango e banana), medicinais (ipeca e espinheira santa) e estudos estão sendo realizados em espécies florestais (pinus e eucalipto) (CARVALHO, SILVA & MEDEIROS, 2006).

A micropropagação busca fidelidade clonal por meio de suas técnicas. Por ser um processo assexuado, envolvendo divisões mitóticas as quais, teoricamente, não causariam qualquer variação genética (OLIVEIRA, 2012; FRANCO, 2013), porém é comum observar que algumas características morfológicas distintas da planta mãe, surgem no novo explante, em especial quando o número de repicagens é excessivo, ou quando elas passam pela fase de calo. Os distúrbios que ocorrem no processo de divisão mitótica são ocasionados, muitas vezes, pelo estresse da técnica de micropropagação e são denominadas variações somaclonais (CANÇADO et al., 2009).

Em sua maioria, o explante mais comum a ser utilizado para o estabelecimento da cultura *in vitro* são tecidos contendo gemas vegetativas das plantas, as quais são inoculadas em frascos que ficam em prateleiras com iluminação artificial, com fotoperíodo e temperatura ambos controlados (CASTILLO et al., 2004).

Murashige, na década de 70, lançou o conceito de estágios de desenvolvimento no processo de propagação *in vitro*, o qual se divide em: I) seleção de explantes, desinfestação e cultura de meio nutritivo sob condições assépticas; II) multiplicação dos propágulos por sucessivas subculturas em meio próprio para multiplicação; III) transferências das partes aéreas para meio de enraizamento e posterior aclimatização (TORRES et al., 1998). Este esquema não precisa necessariamente ser seguido, pois com o passar do tempo ocorreram otimizações e alterações, de acordo com as culturas estudadas (GAURAV et al., 2018).

Para o explante se manter vivo durante seu desenvolvimento é necessária uma fonte externa nutricional de sais minerais, vitaminas, reguladores de crescimento, açúcar, água e ágar (podendo ou não estar presente). A composição do meio de

cultura vai depender da espécie vegetal e da finalidade do processo de micropropagação (CASTILLO et al., 2004).

A etapa de enraizamento é de grande importância para plantas que são conduzidas em condições *in vitro*, porém, é uma etapa delicada, e seu sucesso determinará a sobrevivência das mudas na aclimatização (ROCHA et al., 2008).

No processo de enraizamento *in vitro* as raízes são induzidas em meio de cultura sob condições de laboratório e, posteriormente, são transplantadas para substratos e acondicionadas em casa de vegetação para aclimatização (OLIVEIRA et al., 2013). O enraizamento *in vitro* é caracterizado pela indução de raízes adventícias em explantes com brotações alongadas, a partir de gemas que estejam na fase de multiplicação/alongamento com o objetivo de obtenção de plantas completas, para que posteriormente, possa ocorrer o transplante e aclimatização das plantas sob condições *ex vitro* (MANTOVANI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

A formação de raízes é um processo anatômico e fisiológico complexo. Alguns aspectos do mecanismo de ação do enraizamento variam de acordo com a espécie e também do genótipo (ZHANG et al., 2016). A competência ao enraizamento é uma característica essencial, pois mesmo que todas as condições *in vitro* sejam idealmente manipuladas, se a competência do material não está presente, as respostas aos sinais promotores de raízes não ocorrem e o enraizamento falha (COSTA et al., 2013).

A utilização de um meio de cultura nutritivo com reguladores de crescimento, propicia a indução de raízes *in vitro*. Por meio desses reguladores é possível favorecer o adequado balanço hormonal através da aplicação exógena de auxinas, que conseguem controlar fatores que podem interferir no desenvolvimento radicular, como a questão da competência celular (LEITZKE et al., 2009).

Os estudos sobre enraizamento começaram a ter avanços a partir do ano de 1928 ao ser identificado o primeiro fitohormônio de ocorrência natural a auxina ácido 3-indolacético (AIA). Posteriormente as auxinas sintéticas análogas ao AIA, como o ácido indolbutírico (AIB) e ácido naftaleno-acético (ANA) foram recomendadas como fitorreguladores de enraizamento (SOUZA & PEREIRA, 2007). Geralmente são utilizados reguladores de crescimento, como as auxinas sintéticas e dentre elas, a mais comum é o ácido indolbutírico, pois apresenta baixa fitotoxicidade aos explantes

e proporciona resultados positivos ao enraizamento *in vitro* (AGIELLO-KUBIEC et al., 2021).

Em nível celular as auxinas controlam processos básicos como divisão celular e alongamento celular. Uma vez que são capazes de iniciar a divisão celular, estão envolvidas na formação de meristemas que dão origem a tecidos diferenciados ou não diferenciados (GEORGE et al., 2007). O aumento da formação de primórdios radiciais é capacidade que somente as auxinas conseguem promover, principalmente em tecidos que apresentam predisposição para o enraizamento (HAISSIG, 1972; HARTMANN, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2017).

É importante levar em consideração que as auxinas interagem com outros fitohormônios, e essa complexa rede de interação pode vir a controlar também o desenvolvimento da raiz (BELLINI et al., 2014; PACURAR et al., 2014; PARK et al., 2017). O bom desempenho do enraizamento em relação a diferentes auxinas também é afetada pela quantidade de auxinas endógenas, a quantidade de auxina livre que está exposta às células competentes, e a afinidade dos receptores de auxina envolvidos na resposta do enraizamento (KOETLE et al., 2010; PARK et al., 2017).

A síntese de auxinas ocorre em locais que apresentam crescimento ativo como é o caso do meristema apical do caule, gemas laterais e axilares, folhas jovens e em meristemas das raízes (TAIZ; ZEIGER, 2017). Ao utilizar auxinas na micropropagação é possível maior velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (HARTMANN, 2002).

Em cana-de açúcar as auxinas mais utilizadas na micropropagação para indução do enraizamento são: AIB (CHENGALRAYAN & GALLO-MEAGHER, 2001; SINGH et al., 2003; KHAN et al., 2006; LIMA et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2013; ALCANTARA et al., 2014) e o ANA (ALI et al., 2008; FERREIRA et al., 2016).

2.3 Cultura de Meristemas

Os meristemas são os centros de crescimento das plantas que estão localizados nas pontas de novos brotos e folhas. A micropropagação por meio de meristemas é um dos métodos mais viáveis para obter material sadio por apresentar células indiferenciadas e com ausência de patógenos. Além disso, reproduzem plantas geneticamente idênticas à planta mãe, minimizam a incidência de variação

somaclonal por não passarem pela fase de calo durante o seu desenvolvimento, e garantem produção de um número elevado de mudas perdurando por todo o ano (ALI et al., 2008; ALCANTARA et al., 2014).

Para a produção de materiais de propagação axênicos e geneticamente estáveis, a cultura de meristema é uma opção mas é um processo complexo e que é afetado por fatores endógenos da planta como os fitohormônios e o genótipo da planta matriz e fatores externos como composição do meio de cultura e reguladores de crescimento (SISAY et al., 2020).

A técnica de extração de tecidos meristemáticos é promissora pois consegue eliminar bactérias patogênicas, fungos e vírus transportados por plantas adultas, mas a oxidação tecidual destes meristemas durante o processo de estabelecimento *in vitro* pode ocorrer, a qual é causada pela polifenol oxidase, uma enzima ativada em casos de estresses causados a planta. O tecido vegetal pode vir a ficar marrom ou preto, causando inibições enzimáticas no corpo da planta e pode matar os explantes tornando-se um entrave para a técnica (SASAY et al., 2020).

Há maneiras de controle de oxidação por meio do modificações ambientais de cultivo, manejo dos explantes e principalmente pela adição de antioxidantes ao meio de cultura, e assim, torna-se uma das técnicas mais confiáveis de micropropagação de plantas (WANG et al., 1991; HUSAIN et al., 2009).

O material vegetal que dará origem aos futuros explantes precisa ser desinfectado antes de ser estabelecido *in vitro* pois vem do ambiente externo e com isso, pode estar infectado de alguma forma. Portanto, é necessário que seja feita a limpeza desses materiais por meio de água corrente associado ao uso de algumas substâncias químicas (etanol, hipoclorito de sódio, cloreto de mercúrio, etc.). A utilização de radiação ultravioleta também é usada como técnica de esterilização, tanto para o explante (5 minutos), quanto para a superfície de trabalho (10 minutos) (GUPTA et al., 2020).

O desenvolvimento de protocolos eficientes para a produção de mudas saudáveis, principalmente para a cultura da cana-de-açúcar, vem ganhando espaço nas pesquisas. Salokhe (2021) estabeleceu um protocolo de ciclo completo para a variedade 'Co 86032' provenientes de cultura de meristemas. Esse protocolo pode ser

utilizado para a multiplicação em maior escala das variedades recém lançadas para que os produtores tenham acesso facilitado em um curto espaço de tempo.

Com a obtenção de um protocolo otimizado para a variedade 'C86-165' a partir de meristema apical, Redae et al. (2018) mostraram que para a cultura da cana-de-açúcar a propagação de mudas via meristema apical é uma das alternativas mais promissoras, tanto para se obter materiais vegetais em quantidade adequada para plantio, como a questão de mudas de alta qualidade fitossanitária.

Para multiplicar genótipos de qualidade com o intuito de suplementar a propagação convencional, Naik et al. (2018) testaram quatro variedades de cana-de-açúcar usando diferentes fontes de explantes, entre eles meristema apical, e constataram que a técnica de cultura de meristemas apresentou bons resultados para três das quatro variedades testadas.

2.4 Fatores que afetam a micropropagação

Para o sucesso da propagação *in vitro*, alguns fatores têm grande influência tais como a temperatura, fotoperíodo, umidade relativa, intensidade luminosa, genótipo, meio de cultura, tipo de explante, concentração de reguladores vegetais, assepsia utilizada e habilidade do operador (PASA et al., 2012; FERREIRA et al., 2017).

O estado fisiológico da planta matriz, de onde são retirados os explantes iniciais, influencia diretamente no comportamento das culturas estabelecidas *in vitro*. Plantas bem nutridas, sem sintomas de deficiências nutricionais ou hídricas, em geral, conseguem propiciar melhores explantes. Além disso, os tipos de explantes como folha, pecíolo, hipocótilo, epicótilo, embrião, sementes, explantes de raiz afetam de diferentes maneiras o processo de cultura de micropropagação. Isto pode ser devido aos diferentes níveis de hormônios vegetais endógenos que estão presentes nas partes das plantas. Para fins de regeneração, o explante mais comumente utilizado é a folha, devido sua maior área de superfície disponível (NITISH et al., 2011).

O genótipo também se torna um dos fatores que influencia diretamente no processo de micropropagação. O efeito genotípico na regeneração e no alongamento dos explantes já foi descrito em muitas espécies, e isso pode estar atrelado, em parte, aos diferentes níveis de hormônios endógenos (KUMAR et al., 2010).

O meio de cultura que é usado pelos explantes em sua manutenção é capaz de fornecer substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e norteiam em grande parte o padrão de desenvolvimento *in vitro*. Estes meios nutritivos têm como base as exigências das plantas em relação aos nutrientes minerais, pois a ideia é complementar as substâncias biossintetizadas pelas células, então, alguns compostos orgânicos são adicionados para suprirem as carências metabólicas, energéticas e estruturais das células. Portanto são adicionados a este meio macro e micro nutrientes, sacarose, reguladores de crescimento, vitaminas, agente solidificante e entre outros (VILLA et al., 2010).

Os meios de cultura podem ser líquidos ou sólidos, dependendo da exigência da cultura. Os meios líquidos são mais fáceis de preparar e tornam-se mais baratos do que os sólidos (GUPTA et al., 2020). O meio de cultura escolhido deve atender as premissas básicas da espécie que será usada, e por isso, alguns protocolos foram estabelecidos com particularidades, entre eles o meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) que é um dos mais usados na micropropagação de plantas (CALDAS et al., 1998; CHAVES et al., 2005).

As plantas propagadas *in vitro* não desenvolvem capacidade fotoautotrófica pois no meio de cultura há a presença de uma fonte externa de carbono, a sacarose, geralmente na concentração entre 20 e 30 g L⁻¹, podendo variar conforme o estágio de micropropagação (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Durante o processo *in vitro* essa fonte de carbono torna-se essencial pois fornece energia para que as funções metabólicas da planta possam ocorrer, além disso, é relativamente barata, prontamente disponível e assimilado pelas plantas e parcialmente estável para a autoclavagem, mas outros carboidratos podem ser usados como glicose, maltose e galactose (SILVA et al., 2020).

Por ser um açúcar menos reativo do que outros açúcares redutores, é altamente translocável, torna-se eficiente para seu uso em cultura de tecidos. As concentrações de sacarose usadas no meio de cultura têm efeitos na multiplicação e no crescimento dos explantes, e em concentrações muito elevadas, podendo levar a problemas de potencial osmótico excessivo e em concentrações muito baixas, o que pode acarretar no aparecimento de clorose nas folhas (CARVALHO et al., 2013; LEMES et al., 2016).

Associado também ao meio de cultura em que os explantes vão se estabelecer, o uso de reguladores de crescimento vegetal é uma prática comum. São compostos orgânicos que são sintetizados pelas plantas e influenciam diretamente no crescimento e desenvolvimento do explante *in vitro* (GUPTA et al., 2020).

Os efeitos dos reguladores de crescimento dependem da sua concentração, período que os explantes são expostos e a espécie que está sendo estudada. Explantes submetidos a múltiplas subculturas e associados ao uso de reguladores de crescimento por um longo período, tendem a sofrer variação somaclonal indesejadas (BAIRU et al., 2006, SAKHANOKHO et al., 2021).

Fatores físicos também influenciam no processo de micropropagação como as condições da sala de crescimento onde estes explantes serão mantidos, a luz, que se torna essencial pois regula processos de fotossíntese, fototropismo e morfogênese. Para o crescimento *in vitro* o comprimento de onda, a densidade de fluxo de fótons e o fotoperíodo influenciam diretamente no desenvolvimento do explante. A temperatura também é importante, onde a faixa mais utilizada tem estado entre 20°C e 27°C, podendo variar em maiores amplitudes, dependendo do genótipo estudado (GUPTA et al., 2020).

A alta umidade relativa do ar e a concentração de CO₂ dentro de um ambiente fechado (devido à redução das trocas gasosas) podem influenciar os aspectos anatômicos, fisiológicos e características morfológicas da planta e pode também resultar em perdas durante a aclimação (KITAYA et al., 2005).

Plantas propagadas *in vitro*, geralmente, mostram características, como brotações pouco desenvolvidas, cera epicuticular e cuticular, tecidos com baixa resistência mecânica, maior teor de água, estômatos não funcionais e folhas pequenas e finas com menos tricomas e baixa atividade fotoautotrófica (XIAO et al., 2011; KOZAI & KUBOTA et al., 2012).

Para que os organismos se desenvolvam e os processos fisiológicos possam ser realizados, informações provenientes do ambiente precisam ser processadas, pois as plantas percebem e respondem a estímulos externos. Dentre os fatores do ambiente que afetam os processos biológicos dos vegetais pode-se citar o espectro eletromagnético (luz) que interfere no tamanho, número de órgãos, germinação,

determinação do hábito de crescimento e florescimento (MORELLI & RUBERTI, 2000; CARVALHO et al., 2011).

Portanto, o sucesso de um sistema de micropropagação depende do controle de alguns fatores pois cada espécie apresenta características particulares e com isso, as necessidades para seu cultivo *in vitro* tornam-se únicas. Portanto, o conhecimento do controle desses fatores facilita o uso da técnica micropropagação. Esta técnica é usada cada vez mais para fins comerciais, com diferentes finalidades como a conservação de germoplasma, eliminação de patógenos, melhoramento genéticos e produção de metabólitos secundários (NITISH et al., 2011; CARDOSO et al., 2018).

2.5 Qualidade Espectral

As respostas das plantas são desencadeadas por mudanças na intensidade da luz, qualidade, direção e duração e são regidos e conduzidos pelos fotorreceptores especializados (KAMI et al., 2010). Proteínas fotorreceptoras tem um pequeno cofator ou molécula cromóforo que lhes permite perceber e responder a comprimentos de onda específicos de luz ao longo de um espectro contínuo (BURGIE et al., 2014).

Um determinado comprimento de onda pode promover a indução de processos e, assim, alterar a expressão gênica e os processos de desenvolvimento em plantas (SHIMIZU-SATO et al., 2002; LIU et al., 2011). Além disso, o comprimento de onda pode influenciar na acumulação ou esgotamento de certos pigmentos. Por exemplo, LEDs azuis induzem ao acúmulo dos maiores conteúdos clorofilas nas folhas, enquanto LEDs vermelhos inibem o acúmulo de clorofila (HUNG et al., 2016). Além das alterações genéticas diretas na planta, a luz influencia a epigenética das plantas e pode, conseqüentemente, induzir modificações fenotípicas por meio da regulação da expressão gênica (TATRA et al., 2000).

A morfogênese das plantas é governada principalmente pelos atributos espectrais associados a capacidade de correspondência da planta para os diferentes tipos de fotorreceptores. O sistema fisiológico da planta é governado por vias e uma delas é a via de transdução que dentro do sistema da planta é recebida e transmitida aos fitocromos sensíveis a luz vermelha/vermelha extrema e os criptocromos que são sensíveis a luz azul e as fitotropinas. Interações entre os fotorreceptores vermelhos e

azuis favorecem a percepção e a resposta às condições de luz ambiente (FRANKLIN & WHITELAM, 2004).

A taxa fotossintética no ambiente *in vitro* é considerada mínima e o fototropismo não é relevante nessas condições, então, a fotomorfogênese é considerada essencial nas respostas morfofisiológicas do vegetal. A qualidade de luz, seja pelo comprimento de onda, densidade de fluxo ou fotoperíodo, é essencial ao desempenhar o papel central na morfogênese, no crescimento e na diferenciação das células vegetais (GEORGE et al., 1993).

As respostas das plantas é feita através de quatro classes de fotorreceptores: os fitocromos, que absorvem predominantemente o comprimento de onda vermelho (650 nm-680 nm) e vermelho extremo (VE, 710 nm-740 nm) e absorvem também azul (425 nm-490 nm); os criptocromos, com picos máximos de absorção no azul (425 nm-490 nm) e na banda do UVA (320 nm-400 nm); os fotorreceptores de luz na banda do UVB – ultravioleta B (280 nm-320 nm); e as fotoprinas, que absorvem principalmente luz azul (400 nm-500 nm) (KERBAUY, 2008; FAÇANHA et al., 2018).

O sucesso da regeneração *in vitro* de plantas está atrelado a eficiência dos fótons das fontes de luz fornecidos artificialmente. Os LEDs são fontes ideais que fornecem os atributos espectrais necessários para estimular respostas organogênicas e embriogênicas. O processo de iluminação com LEDs pode propiciar ótima produtividade *in vitro* pois influencia diretamente a morfogênese e o metabolismo da planta (MASSA et al., 2008).

A qualidade de luz se destaca como uma ferramenta tecnológica para melhorar a propagação *in vitro* de plantas, quando relacionada a auxiliar o crescimento e desenvolvimento das vitroplantas, pela questão da luz ser capaz de induzir aumento no número de brotos axilares a partir de meristemas apicais; além de relatos em que o espectro vermelho pode aumentar o incremento das dimensões caulinares (MULEO et al., 2001).

Em condições *in vitro*, alguns estudos vêm sendo executados com várias espécies buscando compreender o efeito da qualidade da luz no crescimento e desenvolvimento dos tecidos, e estes tem demonstrado que a variação no espectro de luz pode influenciar no papel de eficiência dos fitorreguladores adicionados ao meio

de cultura, bem como o balanço hormonal nos tecidos dos explantes (CAMARGO et al., 2015).

As salas de crescimento dos laboratórios de micropropagação geralmente usam a lâmpada fluorescente branca-fria que tem espectros de emissão fixos compostos de muitas bandas no intervalo de crescimento de onda de 320 nm a 800 nm, mas sem a possibilidade de variação nos parâmetros de iluminação (espectros e intervalos de tempo) (KURILČIK et al., 2008). A luz LED branca (460 nm-560 nm) vem sendo uma opção, pois apresenta maior proporção de luz azul e verde, e menor proporção de UV no espectro de absorção e relação vermelha: vermelho-distante, o que é bem menor em comparação às lâmpadas fluorescentes (FRASZCZAK et al., 2014).

O sistema de iluminação de LED (diodo emissor de luz) vem como uma alternativa e está sendo adotado pelos laboratórios de pesquisa e produção, como fonte de luz para a cultura de tecidos pois, apresenta vantagens em relação ao sistema convencional (luz branca-fria), principalmente no que se refere à economia de energia elétrica, baixa geração de calor, alta eficiência de luz, longo período de vida útil e especificidade no comprimento de onda (LI et al., 2010; ROCHA et al., 2010).

A utilização dos LEDs na propagação *in vitro* foi avaliada nos cultivos de orquídea (*Cymbidium* sp.) (HUAN et al., 2004), morango (*Fragaria vesca* L.) (ROCHA et al., 2010) e crisântemo (*Chrysanthemum*) (KIM et al., 2004), no qual os resultados foram expressivos na qualidade da muda produzida e na maior eficiência no processo produtivo.

Ainda há pouca informação sobre o desempenho da cana-de-açúcar exposta a diferentes diodos emissores de luz. Portanto, é importante que se avaliem os efeitos de possíveis combinações de lâmpadas LED no porte das mudas, no número de brotações e em possíveis alterações morfológicas. Alguns estudos já tiveram início como Maluta et al. (2013), que constataram que ao usar a combinação de lâmpadas LED 100% vermelha e 100% azul o número médio de brotações em cana-de-açúcar variedade CTC07 foi maior. Observaram também que os tratamentos com lâmpadas LED 100% vermelha resultaram no desmanche das bandas dos tilacóides, o que os deixou soltos e de forma enovelada dentro do cloroplasto. Este desmanche de bandas aconteceu porque a intensidade de luz excedeu a capacidade fotossintética da planta,

e estes tratamentos ainda se mostraram inferiores na quantificação de clorofilas a e b, porém foram verificados maiores de clorofilas a em lâmpadas LED 100% azul.

Rocha et al. (2010) constataram que em morangueiro variedade 'Saborosa', o maior número de brotações foi no uso de lâmpadas LED azuis, vermelhas e verdes do que sob lâmpadas fluorescentes brancas e Growlux. Maluta et al. (2013) afirma que ocorreu menor emissão de brotações em cana-de-açúcar com o uso de lâmpadas LED azuis. Os mesmos autores afirmam ainda que os menores comprimentos foram encontrados com maior incidência de lâmpadas LED vermelha, ou seja, houve uma menor competição pela luz nesses tratamentos, portanto se obtém mudas com porte menor com o uso desta iluminação o que resulta maior produtividade no sistema *in vitro*.

Ao avaliarem qual seria a concentração adequada de meio de crescimento para micropropagação de cana-de-açúcar variedade RB872552 sob o uso de diodos emissores de luz (LEDs) com diferentes concentrações de luz (azul, vermelha e verde; Growlux e lâmpadas fluorescentes brancas), Rocha et al. (2013) constataram que LEDs vermelhos forneceram uma taxa de multiplicação significativamente alta com 8,5 brotos por subcultura e também o maior comprimento de gemas (33,3 mm) juntamente com a melhor aclimatização das plântulas. Já o desempenho inferior foi observado para plântulas cultivadas sob LEDs verdes.

Quando estudaram os efeitos de diferentes tratamentos de qualidade da lâmpadas LED sobre o crescimento e multiplicação *in vitro* de cana-de-açúcar (RB867515) expostas a cinco tratamentos de luz: três combinações de LEDs azul/vermelha (70:30, 50:50, 30:70), LEDs branca e lâmpadas fluorescentes, Silva et al. (2016), perceberam que entre os tratamentos de luz de lâmpadas LED, a combinação azul/vermelha na proporção 50:50 apresentou os melhores resultados para variáveis como altura, massa fresca, número de folhas e multiplicação de brotos. Os mesmos autores confirmam ainda que o teor de carotenóides das folhas de cana-de-açúcar foi maior sob tratamento com lâmpadas LED branca e em todas as combinações de LED azul + vermelha.

Samuolienė et al. (2017) constataram alguns resultados similares ao investigarem o desempenho de outras culturas (mostarda, beterraba e salsa) sob o uso de lâmpadas LEDs, com comprimento de onda vermelha curta + vermelha longa

suplementado com diferentes intensidades de LEDs azul, exibiram aumento de vários carotenóides (α e β -caroteno, luteína, zeaxantina, neoxantina, violaxantina) clorofilas (a e b) e tocoferol.

O uso de LEDs vem a ser uma alternativa promissora para a produção de mudas tanto em ambiente *in vitro* quanto em condições externas, em grande escala, principalmente na questão de restrições ambientais, como mudanças climáticas e redução de terras cultivadas. Além de compreender quais comprimentos de ondas seriam ideais para mais espécies de plantas, tanto no seu desenvolvimento quanto na produção de fotoquímicos. Fornecer informações em relação ao melhor uso de combinações, tanto para pesquisadores como para empresas de biotecnologia torna-se uma forte demanda de pesquisas (BANTIS et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de realização, origem do material e assepsia

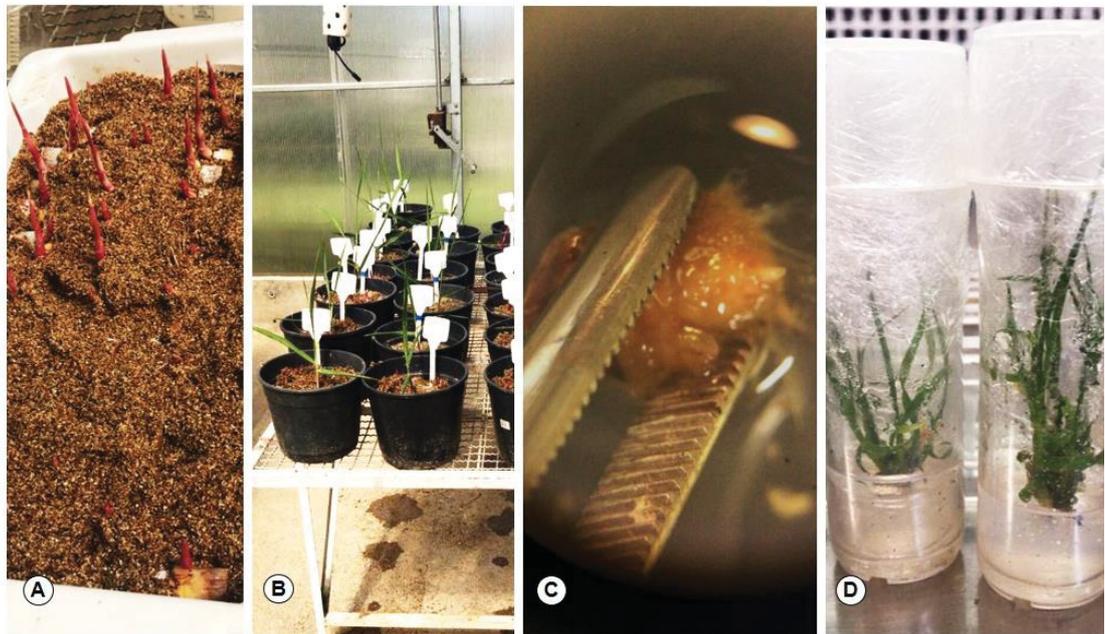
Os experimentos foram realizados no Laboratório de Micropropagação de Plantas, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, no período de 2019/2020.

Mini toletes de cana-de-açúcar variedade RB855156 com oito meses de idade, cedidos pela RIDESA, foram plantados em bandejas plásticas furadas contendo substrato Plantmax® e mantidos em casa de vegetação com temperatura média $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, irrigação manual diária, por dez dias (FIGURA 1A). Depois de brotados (comprimento médio de 20 cm) retirou-se palmitos de aproximadamente cinco centímetros de comprimento (FIGURA 1B). Os palmitos foram desinfestados, em câmara de fluxo laminar com álcool 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio 2% por 20 minutos e então enxaguados (três vezes) com água deionizada esterilizada. Depois de esterilizados, um a um os palmitos eram colocados em placas de Petri (90 x15 mm) contendo cisteína autoclavada (50 mg L^{-1}) e com auxílio de um estereomicroscópio as folhas mais externas foram retiradas e o meristema isolado (tamanho aproximado de 1 mm) de acordo com a metodologia descrita por Alcantara

et al. (2014). Este procedimento foi realizado semanalmente durante quatro meses até a obtenção dos primeiros explantes (FIGURA 1C).

Os meristemas extraídos foram mantidos em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) semissólido suplementado com 6 g L⁻¹ de ágar, 0,1 mg L⁻¹ de cinetina, 0,2 mg L⁻¹ de BAP e 30 g L⁻¹ de sacarose por 45 dias (FIGURA 1D). O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

FIGURA 1- ETAPAS EXECUTADAS COM A VARIEDADE RB855156 DE CANA-DE-AÇÚCAR. A) BROTAÇÃO NA CASA DE VEGETAÇÃO POR 15 DIAS; B) PRIMEIRAS FOLHAS EXPANDIDAS, PONTO DE CORTE DOS PALMITOS; C) EXTRAÇÃO DOS MERISTEMAS COM AUXÍLIO DE LUPA NO LABORATÓRIO; D) PRIMEIROS EXPLANTES COM SUCESSO APÓS 90 DIAS NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE MERISTEMAS.



3.2 Multiplicação das brotações

Os explantes foram mantidos através da repicagem do material vegetal e troca do meio de cultura e estavam no oitavo subcultivo. Os explantes foram padronizados para o experimento, apresentando três brotações cada e 4 cm de comprimento (FIGURA 2).

Para avaliar as multiplicações das brotações dos meristemas utilizou-se meio de cultura MS líquido suplementado com 0,1 mg L⁻¹ de cinetina, 0,2 mg L⁻¹ de BAP e sacarose (30 g L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Utilizou-se 30 ml de meio em frascos de 200 ml de volume.

O material foi mantido por 40 dias em sala de crescimento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sob diferentes qualidades de luz, com intensidades luminosas distintas (LEDs branco; LEDs vermelho; LEDs azul; LEDs verde e LEDs amarelo) com fotoperíodo de 16 h.

A intensidade luminosa das lâmpadas LED utilizadas no presente estudo segundo medidas aproximadas calculadas por Sharakshane (2018) foram: LED branca $25,38 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; LED vermelha $0,489 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; LED azul $23,33 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; LED amarela $19,17 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e LED verde $16,31 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

A cada dez dias foi avaliado a taxa de brotação por unidade experimental (frasco) para analisar o total de brotações após o período de 31 dias. Para cada um dos tratamentos foram feitas seis repetições com quatro explantes cada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

Após 37 dias foram retiradas amostras para análises de pigmentos fotossintéticos clorofila *a* e *b*, clorofilas totais (*a* + *b*) e carotenoides. Foi utilizada a metodologia adaptada de Santos et al. (2008), em que foi cortado e pesado 0,800 g de material foliar dos explantes e incubado em 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3), permanecendo em tubos de ensaio de vidro (13x100 mm) cobertos por alumínio e mantidos no escuro por 48 horas (FIGURA 3A; 3B; 3C). Após este período, determinou-se a absorbância das amostras em espectrofotômetro Bel Photonics ® SP1105 utilizando cubeta de quartzo de 10 mm de caminho ótico (FIGURA 3D; 3E). Os comprimentos de ondas e as equações para o cálculo das concentrações de clorofilas *a*, *b*, clorofilas totais e carotenoides seguiram a metodologia descrita por Wellburn (1994) (FIGURA 3F).

FIGURA 2- EXPLANTES DA VARIEDADE RB855156 INICIALMENTE COM TRÊS BROTAÇÕES USADOS NO EXPERIMENTO INICIAL EM MEIO MS ACRESCIDO COM 30 g L⁻¹ DE SACAROSE E 0,1 mg L⁻¹ DE CINETINA E 0,2 mg L⁻¹ DE BAP E SUBMETIDOS À DIFERENTES LÂMPADAS LEDS COM SUAS RESPECTIVAS INTENSIDADES LUMINOSAS (FONTE: ZANATTA,2021).

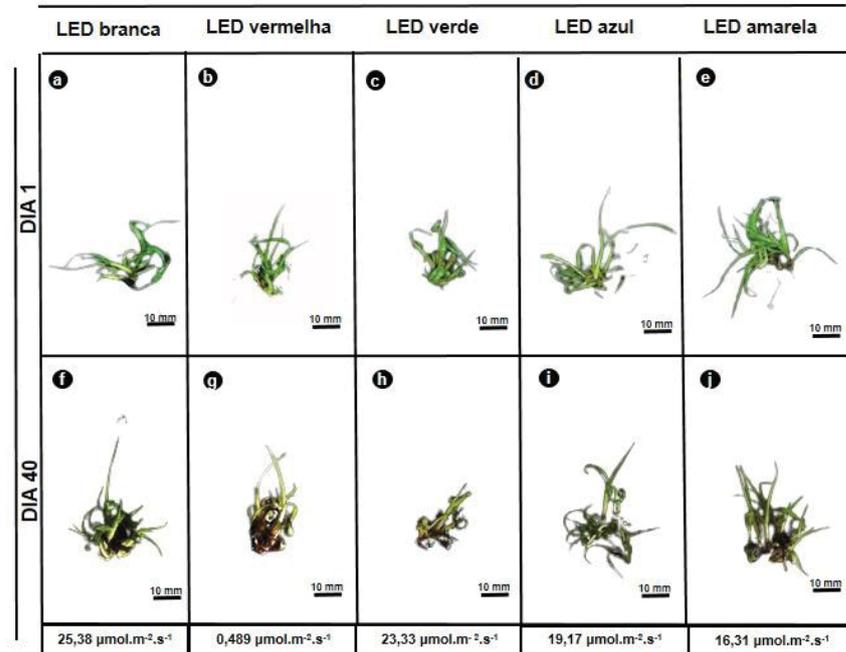
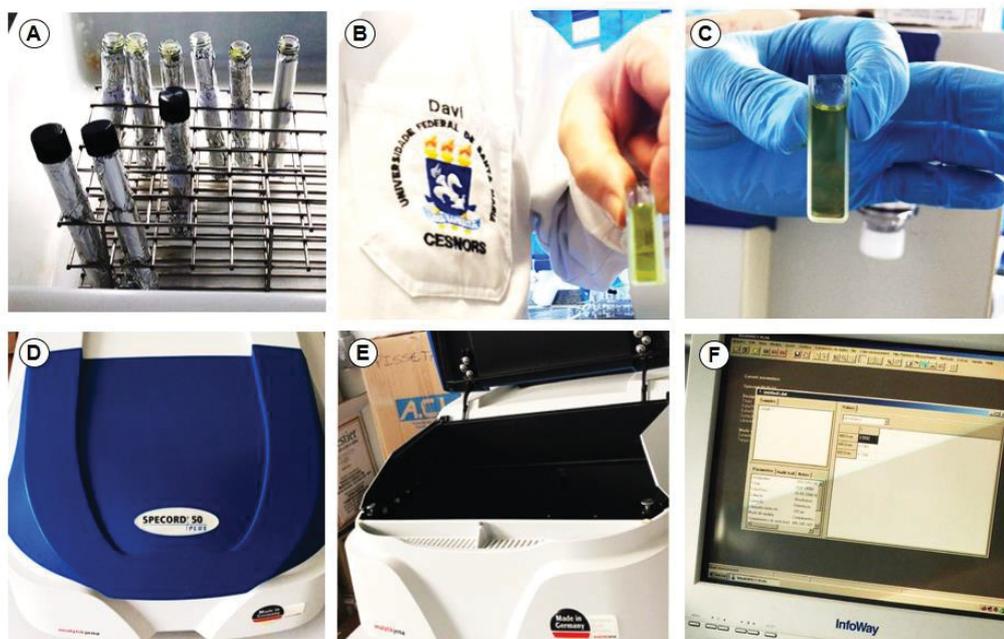


FIGURA 3- ANÁLISE DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS. A) MATERIAL VEGETAL IMERSO EM DMSO; B, C) ALÍQUOTA EXTRAÍDA DO MATERIAL VEGETAL; D, E) ESPECTOFOTÔMETRO SPECORD 50 PLUS; F) SOFTWARE RESPONSÁVEL PELA MENSURAÇÃO DOS PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS (WINASPECT PLUS) (FONTE: ZANATTA,2021).



3.3 Enraizamento das plântulas

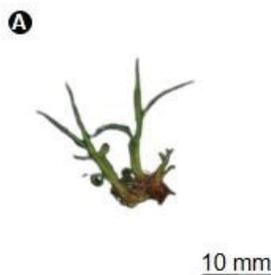
As plantas utilizadas para o enraizamento estavam no nono subcultivo e foram colocadas por 15 dias em meio MS $\frac{1}{2}$ força para neutralizar os efeitos do meio de cultura em que estavam. Em seguida, foram testadas cinco concentrações de AIB (ácido 3- indolbutírico) combinados com cinco diferentes qualidades de luz.

Os explantes foram mantidos em meio de cultura MS líquido com 30 g L⁻¹ de sacarose, com diferentes concentrações de AIB e pH 5,8 antes da autoclavagem.

Os tratamentos foram: T₁: testemunha, sem adição de ; T₂: 0,25 mg L⁻¹ AIB; T₃: 0,5 mg L⁻¹ AIB; T₄: 0,75 mg L⁻¹ AIB; e T₅: 1 mg L⁻¹ AIB) combinados com diferentes qualidades de luz, com intensidades luminosas distintas (LEDs branco; LEDs vermelho; LEDs azul; LEDs verde e LEDs amarelo) com fotoperíodo 16 h luz em sala de crescimento a 25 ± 2° C.

O delineamento utilizado foi um arranjo bifatorial, considerando as concentrações de AIB e as diferentes qualidades de luz. Cada tratamento apresentou cinco repetições, com quatro explantes por frasco, o explante foi padronizado, com três brotações e 4 cm de comprimento (FIGURA 4). Após 21 dias de subcultivo, foi avaliado o comprimento de maior raiz (cm), a massa seca e fresca (g) das raízes, comprimento de parte aérea (cm), massa fresca e seca de parte aérea (g), número de brotações por explantes. Para a determinação do peso seco o material foi mantido em estufa de circulação de ar por 48 horas a 65°C.

FIGURA 4- EXPLANTE INICIAL DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS DE MULTIPLICAÇÃO E ENRAIZAMENTO (FONTE: ZANATTA,2021).



3.4 Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados. Os dados foram submetidos ao teste de Barlett e analisados pela análise de variância quando homogêneas. As médias foram avaliadas pelo teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software RStudio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Multiplicação das Brotações

O uso de lâmpadas LED em sistema de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar variedade RB855156 promoveu diferença significativa apenas para número de brotações por explantes (NBE) a 5% de probabilidade pelo teste de F ($p < 0,05$). O maior número de brotações por explantes (NBE) foi encontrado em explantes cultivados sob a lâmpada LED amarela (55,60) sendo 55,95% superior das demais (TABELA 1).

TABELA 1 - NÚMERO DE BROTAÇÕES POR EXPLANTES (NBE) DE CANA-DE-AÇÚCAR DA VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM DIFERENTES TIPOS DE LED.

| Espectro Luminoso | BROTAÇÕES |
|--------------------------|------------------|
| LED Amarela | 55,600 a |
| LED Azul | 19,000 b |
| LED Branca | 29,830 b |
| LED Verde | 24,250 b |
| LED Vermelha | 24,880 b |

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

O sistema morfofisiológico da planta é governado por vias e uma dessas é a de transdução de sinais, que neste caso é a luz. Em relação a percepção da luz dentro do sistema da planta, atuam moléculas receptoras que são utilizadas para detectar a luz solar chamadas de fotorreceptores e entre estas estão aquelas que são capazes de promover a fotomorfogênese em plantas (FRANKLIN et al., 2010; BANTIS et al., 2018).

Neste estudo, ao serem expostos às diferentes lâmpadas LEDs, os explantes da variedade RB855156 apresentaram resposta significativa para a lâmpada LED

amarela que promoveu um número médio de 55,60 para número de brotações por explantes, que foi superior às demais lâmpadas testadas (TABELA 1).

As outras lâmpadas LEDs testadas não apresentaram diferenças significativamente entre si, mas é possível observar uma média baixa para a lâmpada LED azul (19,00 NBE), o que se opõem a resultados encontrados por Silva et al. (2016) para a taxa de brotação para a variedade de cana-de-açúcar RB867515, ao comparar o efeito de tratamentos de qualidade da luz, relatam que a maior taxa de multiplicação foi sob condições de LEDs 30% azul e 70% vermelha ($53 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), seguido de 50% azul e 50% vermelha ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Resultados similares foram observados por ROCHA et al. (2013) ao avaliarem o uso de LEDs em substituição a lâmpadas fluorescentes brancas para a variedade RB872552, com altas taxas de brotações quando os explantes permaneceram sob lâmpadas LEDs vermelhas (630 nm), seguidas de azuis (470 nm) e verdes (530 nm) (8,5; 11,7 e 11,8 respectivamente).

Os fitocromos são os fotorreceptores mais relacionados a fotomorfogênese e absorvem as luzes vermelhas e vermelho-distante mais fortemente (600-750 nm), mas também conseguem absorver o espectro de luz azul (350-500 nm) e radiação UV-A (320-400 nm) e, além dos fitocromos, há outros três fotorreceptores que medeiam os efeitos da luz: criptocromos, fototropinas e família ZEOTLUPE (ZTL) em que todos são sensíveis a luz UV-A/ azul (TAIZ; ZEIGER; 2017).

A tecnologia do uso de lâmpadas LEDs é caracterizada como um tipo único de diodo semicondutor e seu pico de emissão de luz pode variar entre 220 a 1.000 nm, além de que é o primeiro dispositivo em que é possível o controle espectral, com isso, os comprimentos de ondas são adaptados aos fotorreceptores dos vegetais modulando alguns respostas morfofisiológicas das plantas (OLLE & VIRŠILE, 2013).

O espectro luminoso que é usado nas lâmpadas de LEDs implantadas nos laboratórios de micropropagação obedecem a um padrão para que seja fornecido com maior similaridade ou que chegue o mais próximo aos comprimentos de ondas que as plantas receberiam sob condições *ex vitro*. Os comprimentos mais usuais são os das cores azul, vermelha, verde e branca (400-500; 600-750; 500-600 e 460-560 nm) e muito pouco usada em laboratórios mas que já vem ganhando espaço, a lâmpada LED amarela (570-590 nm) (MUNEER et al., 2014; TAIZ; ZAIGER, 2017).

A intensidade luminosa das lâmpadas LED utilizadas no presente estudo (LED branca $25,38 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; LED vermelha $0,489 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; LED azul $23,33 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; LED amarela $19,17 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e LED verde $16,31 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (medidas aproximadas) segundo valores calculados por Sharakshane (2018), apresentam baixo fluxo de fótons fotossintéticos e conseqüentemente baixo comprimento de onda do que geralmente é apresentado em lâmpadas LEDs de outros experimentos científicos. Mesmo assim, os explantes sob essas intensidades luminosas tiveram respostas diferentes.

As proteínas fotorreceptoras têm um pequeno cofator ou molécula cromóforo que lhes permite detectar e responder a comprimentos de onda específicos de luz em uma faixa espectral contínua (BURGIE et al., 2014; BANTIS et al., 2018). Assim, é possível associar que ao serem expostas as lâmpadas de luz LED amarelas, os explantes de cana-de-açúcar variedade RB855156 ativaram essas proteínas fotorreceptoras, as quais conseguem absorver os espectros que emitem os comprimentos de ondas no vermelho e vermelho-distante e também o espectro de luz azul.

A intensidade luminosa oferecida pelo fluxo de fótons da lâmpada LED amarela ($19,17 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) foi eficiente, no caso desse estudo, para desencadear o processo de morfogênese de novas brotações nestes explantes o que é diferente do que se encontra em outros trabalhos, pois é muito escasso os relatos do uso da lâmpada LED amarela em estudos de micropropagação, a preferência permanece sendo as lâmpadas LEDs azuis e vermelhas.

A tecnologia de iluminação LED que é empregada nos laboratórios geralmente utiliza lâmpadas LEDs azuis e vermelhas, por serem mais tradicionais em pesquisas científicas. Alguns autores mostram que o efeito de lâmpadas LEDs em *Anthurium*, proporcionou um maior número de brotos quando os explantes foram expostos a uma maior porcentagem de lâmpadas LEDs azuis em vez de vermelha (BUDIARTO et al., 2010) e em *Brassica napus* a melhor taxa de proliferação foi obtida com 100% de lâmpadas LEDs azuis (LI et al., 2013). Ao analisar o desenvolvimento *in vitro* de Banana (*Musa acuminata*) 'Grande Nain', Trivedi et al. (2017) relataram que as lâmpadas LEDs vermelhas apresentaram o maior número de brotos por explante seguido pelas lâmpadas LEDs azuis e branca.

4.2 Pigmentos Fotossintéticos

Em relação aos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides) para a variedade RB855156 de cana-de-açúcar, não houve diferenças significativas para clorofila *a* e *b*, com um valor médio de 0,75 e 0,08 mg g⁻¹, respectivamente (TABELA 2). Já para clorofila total os maiores índices foram para os explantes sob lâmpadas de LED branca, que apresentou uma média de 26,8% superior que às demais, mas que não diferiu da lâmpada LED azul e amarela que acompanha os baixos índices das lâmpadas LED vermelha e verde (TABELA 2). Em relação aos carotenóides observou-se que os maiores índices foram para os explantes sob lâmpadas de LED branca e azul sendo 66,04% superiores as demais, seguido das lâmpadas LED amarela, vermelha e verde, as quais não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si (TABELA 2).

TABELA 2- PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 *IN VITRO* SUBMETIDAS A DIFERENTES QUALIDADES ESPECTRAIS (LED).

| Espectro Luminoso | Clorofila <i>a</i> (mg g⁻¹) | Clorofila <i>b</i> (mg g⁻¹) | Clorofila Total (mg g⁻¹) | Carotenóides (mg g⁻¹) |
|--------------------------|---|---|--|---|
| LED Amarela | 0,720 ^{ns} | 0,080 ^{ns} | 0,790bc | 0,200b |
| LED Azul | 0,990 ^{ns} | 0,090 ^{ns} | 1,080b | 0,260a |
| LED Branca | 0,800 ^{ns} | 0,080 ^{ns} | 1,110ab | 0,270a |
| LED Verde | 0,6100 ^{ns} | 0,070 ^{ns} | 0,680c | 0,170b |
| LED Vermelha | 0,620 ^{ns} | 0,080 ^{ns} | 0,700c | 0,180b |

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey, com 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo.

Para a variedade RB855156 os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides) houve resposta significativa somente para clorofila total e carotenóides ambos para as lâmpadas LED branca e azul. Estas lâmpadas LEDs favoreceram a biossíntese, conservação da clorofila total e dos carotenóides, enquanto que as demais lâmpadas LEDs proporcionaram uma maior degradação destes pigmentos.

Resultados semelhantes foram encontrados por Ferreira et al. (2016) ao estudarem as respostas da variedade RB867515 sob duas diferentes fontes de iluminação, sendo a convencional por lâmpadas fluorescentes brancas ou sob lâmpadas LEDs brancas, e concluíram que os teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b*, total e carotenóides) foram maiores nas plantas cultivadas sob lâmpada LED branca. Da mesma forma, Silva et al. (2014), com cultivo *in vitro* de cana-de-

açúcar (RB92579), observaram maiores teores de clorofila total usando lâmpadas LEDs brancas em relação ao uso de lâmpadas LED azul/vermelha em seus trabalhos. Dutta Gupta & Karmakar (2017) demonstraram a influência de lâmpadas LEDs de vários comprimentos de ondas em *Swertia chirata* – conhecida por suas propriedades medicinais, onde constataram que os explantes expostos as lâmpadas LEDs azuis monocromáticas apresentaram maiores conteúdos de clorofila total (clorofila *a* + *b*).

Os estudos que avaliam o efeito de lâmpadas LEDs em micropropagação geralmente estão atrelados alguns parâmetros bioquímicos essenciais pois a luz tem grande influência nestes processos que interferem no sistema fisiológico da planta. Entre esses parâmetros bioquímicos, destaca-se a mensuração da quantidade dos pigmentos fotossintéticos, entre estes a clorofila e os carotenoides que podem estar presentes nas células e/ou em tecidos cultivados.

A clorofila é um indicador confiável da saúde das plantas pois um alto conteúdo deste pigmento fotossintético sinaliza que a atividade fotossintética está em níveis ideais, além de estar atrelado a sua atividade nutricional (LIU et al., 2009). Ao investigarem o efeito de tratamentos de iluminação em mudas micropropagadas de bananeira, Vieira et al. (2015) constataram que os valores mais altos de conteúdo de clorofila (*a*, *b* e total) foram aquelas em que as mudas foram expostas as lâmpadas LEDs branca e LEDs bancas/vermelhas distante. Resultados diferentes foram encontrados por Pinheiro et al. (2019), ao testarem diferentes diodos emissores de luz (LEDs) em *Alpinia purpurata* cv. Red Ginger e relatam que diferente do presente estudo, as lâmpadas LEDs brancas proporcionaram maior acúmulo de clorofila *b*. Conhecida por ser uma espécie aromática e sua capacidade de extração de óleo essencial *Lippia rotundifolia* Cham ao ser colocada em condições de estudo, de Hsie et al. (2019) constataram que os maiores valores encontrados para clorofilas totais foram em lâmpadas LEDs brancas, fazendo associação com os resultados encontrados em nosso estudo com cana-de-açúcar.

Um fóton pode excitar apenas um elétron e o nível que o elétron vai atingir depende da energia do fóton, portanto, depende do comprimento de onda, e a clorofila precisa ser excitada para desencadear as reações bioquímicas que competem a ela que ocorrem ocorrer por meio da absorção de fótons. A luz azul apresenta um menor comprimento de onda e assim, um estado energético maior do que o vermelho

(LAZZARINI et al., 2017). Este estudo mostra que realmente os maiores níveis de clorofilas totais estão em explantes expostos as lâmpadas LEDs brancas e azuis.

Os cloroplastos que estão presentes nas células de plantas provenientes da técnica de cultura de tecidos tendem a ser mais variáveis em estrutura do que aqueles em células de folhas de plantas formadas fora do ambiente *in vitro*, podem vir a não se desenvolver em uma taxa simultânea podendo apresentar tilacóides de formato anormal (GEORGE et al., 2007). Os índices de clorofila *a* e clorofila *b* deste trabalho podem ter sido afetados, pois não apresentaram respostas aos tratamentos com lâmpadas LEDs, sabendo que é nos tilacóides que se encontra o pigmento de clorofila e assim, subentende-se que aqueles explantes submetidos às lâmpadas LED brancas e azuis induziram uma maior formação de clorofila total e carotenoides, por um possível maior número de cloroplastos. Os baixos níveis de chl *a* e chl *b* sob as diferentes lâmpadas LEDs testadas neste experimento sugerem que pode ter ocorrido o dismantelamento dos tilacóides, como relatado por Dutta Gupta & Karmakar (2017).

As respostas das plantas são desencadeadas por mudanças na intensidade, direção e qualidade da luz, sendo conduzida por fotorreceptores específicos (KAMI et al., 2010). Para que ocorra a transmissão de energia luminosa para os centros de reação é necessário a presença das clorofilas, para que também, os carotenoides possam vir a atuar, como fotoprotetores (TAIZ; ZEIGER, 2017).

Quando há excesso de luz podem ocorrer alguns danos às membranas das células expostas. Os carotenoides podem limitar estes danos já que eles são captadores de radicais livres. Além disso, podem dissipar eficientemente energia e causar a excitação de clorofila. Ao expor os explantes de cana-de-açúcar (RB855156) às lâmpadas LED branca e azul, os índices de carotenoides apresentaram-se superiores aos demais tratamentos. Silva et. al. (2014) afirmam em seu trabalho com cana-de-açúcar, que o conteúdo de carotenóides aumentou quando a quantidade de luz azul diminuiu, o que se opõe ao presente estudo, pois tanto a lâmpada LED branca quanto azul apresentam os maiores fluxos de fótons e a mesma intensidade.

Os carotenoides possuem também a capacidade de absorver a energia da luz, a qual pode estar em uma região espectral onde as clorofilas não são capazes de

explorar, e conseguem transferir para elas, e assim são capazes de aumentar a eficiência fotossintética da planta (DAVIS et al., 2007).

Ao investigarem a influência das lâmpadas LEDs para *Stevia rebaudiana*, Simlat et al. (2016) mensuraram também pigmentos fotossintéticos e encontraram apenas em lâmpadas LEDs azuis, maiores médias para os carotenoides. Dutta Gupta & Karmakar (2017) também corroboram com esse resultado, mostrando que os maiores teores de carotenóides foram encontrados em explantes de *Swertia chirata* expostos as lâmpadas LEDs azuis:vermelhos (na proporção 1:1). Resultados que apresentam coerência com o do presente trabalho, onde os maiores índices foram para os explantes sob lâmpadas de LED branca e azul, sendo 66,04% superiores aos demais, seguido das lâmpadas LED amarela, vermelha e verde. Além de seu papel de protetor na fotossíntese, os carotenoides também são antioxidantes eficientes e capazes de eliminar as espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas durante a fotossíntese (SIMLAT et al., 2016).

A luz azul também é necessária para promover a abertura dos estômatos, melhorar o acesso ao CO₂ e dirigir transpiração e absorção de nutrientes (HOGEWONING et al., 2010; VAN LEPEREN et al., 2012; NANYA et al., 2012; SAVVIDES et al., 2012). Esta mesma luz tem a capacidade de aumentar a expressão de enzimas envolvidas na fotossíntese (DUTTA GUPTA & KARMAKAR, 2017) isso pode ser associado ao fato de que explantes sob lâmpadas LED branca e azul que apresentam bons valores para intensidades luminosas (25,38 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e 19,17 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, respectivamente) e com isso, houve um melhor aproveitamento do aparato fotossintético destes explantes, apresentando maiores índices de clorofilas totais.

Essa mesma luz, que beneficia a planta, pode vir a ocasionar fotoinibição, onde a exposição a uma quantidade de luz maior do que se pode usar, e com isso o foto sistema II é inativado e frequentemente danificado. Além disso, sob luz forte os cloroplastos conseguem se deslocar para as superfícies paralelas à luz incidente e assim, evitam a sua absorção em excesso, mas, essa reorganização pode diminuir a quantidade de luz absorvida pela folha em 15% (TAIZ; ZAIGER, 2017). Nesse trabalho não foi possível realizar os cortes anatômicos que ajudariam a observar esse fenômeno, mas é uma opção futura para uma melhor compreensão.

4.3 Qualidade de Luz x AIB

Em relação a presença de AIB a concentração que apresentou valor superior às demais foi a de 0,50 mg L⁻¹ com 85% dos explantes enraizados, diferindo estatisticamente apenas da concentração 0 mg L⁻¹ (TABELA 3), não diferindo estatisticamente das concentrações de 0,25 mg L⁻¹, 0,75 mg L⁻¹ e 1 mg L⁻¹ respectivamente.

TABELA 3- ENRAIZAMENTO DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L ⁻¹) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|---------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 80,00 | 100,00 | 80,00 | 95,00 | 80,00 | 87% a |
| LED Amarela | 80,00 | 95,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 95% a |
| LED Vermelha | 55,00 | 70,00 | 80,00 | 75,00 | 70,00 | 56% ab |
| LED Azul | 60,00 | 75,00 | 85,00 | 85,00 | 60,00 | 73% a |
| LED Verde | 5,00 | 65,00 | 80,00 | 30,00 | 55,00 | 47% b |
| \bar{X} | 55% b | 68% ab | 85% a | 59% ab | 73% ab | |

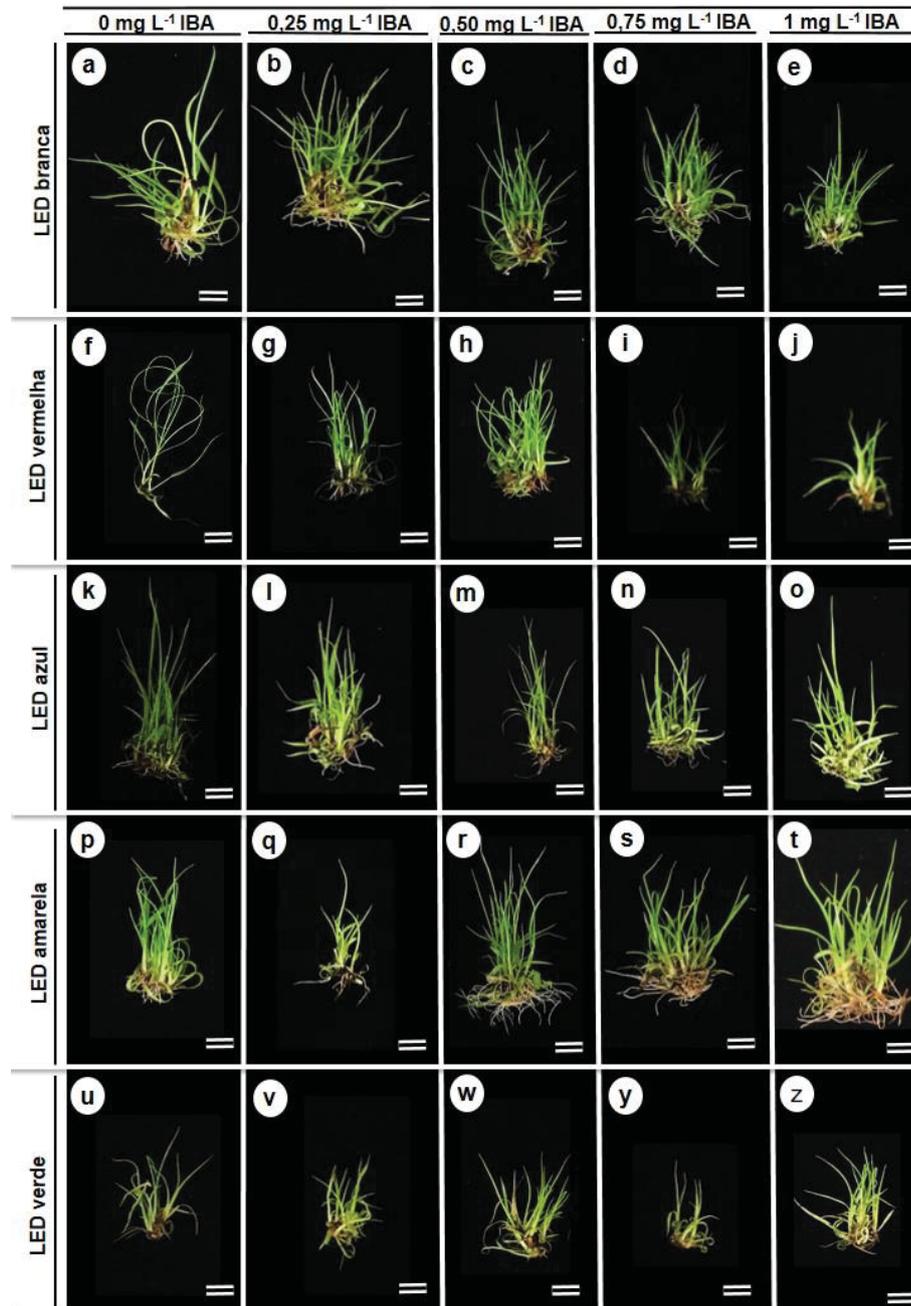
Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

Na cultura de tecidos é imprescindível o uso de uma fonte de luz durante o desenvolvimento das plântulas, principalmente na fase de enraizamento. Sua ação se dá pela ação direta ou indireta na regulação dos processos que afetam o crescimento e desenvolvimento, porém, em muitas espécies essa fase é delicada e desafiadora em ambiente *in vitro* (PASA et al., 2012).

Quando testaram 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 LEDs vermelhos e 20% de LEDs azuis, acompanharam o enraizamento de brotações da variedade de RB855156 de cana-de-açúcar, sem adição de reguladores vegetais ao meio de cultura, Rocha et al. (2018) observaram que a porcentagem de enraizamento não foi influenciada pela intensidade de fluxo de fótons, mas que tiveram incrementos no número de raízes e brotos nas intensidades de fluxo de fótons de 75 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Diferente dos resultados que nosso trabalho apresentou, no qual o meio sem concentrações de AIB não foi significativo para o enraizamento da mesma variedade

(TABELA 3), mas sim na presença das concentrações 0,5; 0,75 e 1 mg L⁻¹ de AIB associadas as lâmpadas LEDs amarelas (FIGURA 5R; 5S e 5T).

FIGURA 5- EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB E DIFERENTES INTENSIDADE LUMINOSAS FORNECIDAS POR LÂMPADAS LEDS, NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DA VARIEDADE RB855156 DE CANA-DE-AÇÚCAR, APÓS 30 DIAS. (ESCALA CORRESPONDE À 10 mm). (FONTE: ZANATTA,2021).



Alcantara et al. (2014) ao analisarem a regeneração de plantas e a origem e modelos de divisão celular durante os diferentes estágios dos embriões somáticos de duas variedades de cana-de-açúcar RB855156 e RB7245, estudaram também o

enraizamento das brotações com AIB e verificam que para ambas as variedades a concentração de 5,0 μM AIB promoveu o enraizamento das brotações, porém em sistema de iluminação convencional. Já em nosso estudo para a mesma variedade estudada RB855156, 0,5 mg L^{-1} de AIB foi a concentração que promoveu o maior porcentagem de enraizamento das brotações (FIGURA 5). Estudos assim, com as mesmas variedades, mostram que as auxinas geralmente quando usadas em cultura de tecidos, auxiliam principalmente no enraizamento de explantes, mas para o bom desenvolvimento nesta etapa, o genótipo também deve ser levado em conta (KWON et al., 2019).

Pela análise de variância, para o comprimento da maior raiz da variedade estudada houve diferença significativa para diferentes qualidades de luz e para o fator concentrações de AIB à 5% de probabilidade pelo teste de F ($p < 0,05$). Os explantes cultivados sob lâmpada LED amarela foram os que apresentaram maior média de comprimento de maior raiz com 1,44 cm (TABELA 4), mas que não diferiu estatisticamente da lâmpada LED branca e LED azul com 1,30 cm e 1,29 cm, respectivamente (TABELA 4). Na sequência ficaram as lâmpadas LED vermelha e LED verde com 0,91 cm e 0,43 cm, respectivamente, os quais também não diferiram entre si.

TABELA 4- COMPRIMENTO DE MAIOR RAIZ (cm) DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L^{-1}) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|----------------------------|--------|--------|---------|---------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 1,202 | 1,139 | 1,509 | 1,343 | 1,323 | 1,303 ab |
| LED Amarela | 0,909 | 1,117 | 1,961 | 1,881 | 1,346 | 1,443 a |
| LED Vermelha | 1,036 | 0,590 | 0,897 | 1,231 | 0,804 | 0,912 bc |
| LED Azul | 1,256 | 0,884 | 1,959 | 1,611 | 0,793 | 1,299 ab |
| LED Verde | 0,073 | 0,622 | 0,684 | 0,279 | 0,607 | 0,434 c |
| \bar{X} | 0,893ab | 0,870b | 1,402a | 1,269ab | 0,975ab | |

LED*, C*, LEDxC^{ns}, coeficiente de variação: 60,3%

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

Ao estudarem a influência de lâmpadas LEDs (85% vermelhas ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e 18% azuis ($80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em comparação com as lâmpadas fluorescentes

frias, na embriogênese somática, multiplicação e enraizamento de cana-de-açúcar (RB98710), Ferreira et al. (2017), relatam que tanto as lâmpadas LEDs quanto as fluorescentes proporcionaram enraizamento dos explantes. Às vezes surgem tecidos, órgãos e até mesmo células que são capazes de crescer sem a adição de qualquer auxina ao meio e isso acontece por meio da auxina endógena, por estar em concentrações adequadas (GEORGE et al., 2007).

Ao trocarem as lâmpadas fluorescentes brancas por lâmpadas de diodos emissores de luz (LED) azul, verdes e vermelhas como fonte de luz e associarem diferentes concentração de sacarose na micropropagação de cana-de-açúcar (RB872552), Rocha et al. (2013) mostram que os resultados mais satisfatórios para enraizamento foram com o uso de lâmpadas LEDs vermelhas, azuis e fluorescentes brancas (630 nm; 470 nm e 20 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Contrastando também com nossos resultados para a variedade RB855156 no qual o uso de lâmpadas LED amarelas (16,31 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) foi o que apresentou resultados mais satisfatórios.

Para os valores de massa seca de raiz da variedade RB855156 por meio da análise de variância, houve diferença significativa apenas para o fator qualidades de LUZ ($p < 0,05$), para o fator concentrações de AIB não houve diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$) (TABELA 5). Em relação ao fator iluminação, a lâmpada LED amarela apresentou a maior média de massa seca de raiz com valor médio de 0,052 g, porém, esta não diferiu estatisticamente das lâmpadas LED branca (0,035 g), LED azul (0,031 g) e LED vermelha (0,013 g) as quais não diferiram da menor média apresentada pela lâmpada LED verde (0,013 g).

TABELA 5- MASSA SECA DE RAIZ (g) DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L^{-1}) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 0,025 | 0,028 | 0,031 | 0,031 | 0,027 | 0,035 ab |
| LED Amarela | 0,025 | 0,025 | 0,072 | 0,058 | 0,080 | 0,052 a |
| LED Vermelha | 0,005 | 0,029 | 0,023 | 0,007 | 0,003 | 0,013 ab |
| LED Azul | 0,069 | 0,011 | 0,046 | 0,019 | 0,008 | 0,031 ab |
| LED Verde | 0,003 | 0,017 | 0,028 | 0,002 | 0,017 | 0,013 b |
| \bar{X} | 0,032 | 0,022 | 0,007 | 0,024 | 0,027 | |

LED*, C^{ns}, LEDxC^{ns}, coeficiente de variação: 121,7%

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo.

A auxina endógena naturalmente produzida pela planta (AIA) é sensível à luz e degrada facilmente, enquanto que as outras auxinas sintéticas (MOCKAITIS & ESTELLE, 2008), como nesse caso AIB, são mais estáveis. Portanto, os explantes que foram expostos sob as lâmpadas LED amarelas e azuis, talvez por receberem este espectro de luz, promoveu-se a maior estabilidade para AIB, os quais foram mais satisfatórios para a variável comprimento de maior raiz (CMR).

Para a variedade RB98710, Ferreira et al. (2017) avaliando o peso fresco e seco de raiz, constataram bons resultados para os explantes mantidos sob os LEDs associado ao uso de 5,37 μM de ANA, o que em nosso estudo também foi possível notar maiores valores para massa fresca e seca de raiz associada aos LEDs, principalmente para a lâmpada LED amarela, porém associado ao uso de outra auxina sintética (AIB), na concentração de 0,5 mg L^{-1} .

A capacidade de enraizamento do explante na cultura de tecidos reflete o sucesso desta prática. O AIB é frequentemente a auxina mais utilizada no cultivo *in vitro* principalmente para o enraizamento, várias auxinas podem ser usadas para este processo, tais como ácido indol-3-butírico (AIB), ácido naftalenoacético (ANA) e o ácido indol-3-acético (AIA), que é o principal tipo de auxina e também ocorre naturalmente na planta (PHILLIPS & GARDA, 2019; AMIRI et al., 2019; RITTERBUSCH et al., 2020).

Para o número de brotações adventícias (NBE) da variedade RB855156, a análise de variância mostrou que houve diferença significativa apenas para o fator qualidades de luz ($p < 0,05$), para o fator concentrações de AIB não houve diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$) (TABELA 6). Em relação a iluminação, a lâmpada LED amarela (maior média 10,68 brotações por explante) foi superior se comparada as lâmpadas LED vermelha, azul e verde mas não diferiu estatisticamente das lâmpadas LED branca (9,68 brotações por explante) e essa por sua vez não diferiu das lâmpadas LED azul e LED vermelha (8,32 e 6,68 brotações por explante) (TABELA 6).

TABELA 6- NÚMERO DE BROTAÇÕES ADVENTÍCIAS DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L ⁻¹) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|---------------------------|-------|--------|--------|--------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 11,200 | 9,400 | 9,400 | 9,600 | 8,800 | 9,680 ab |
| LED Amarela | 11,000 | 9,600 | 10,800 | 10,000 | 12,000 | 10,680 a |
| LED Vermelha | 5,800 | 6,600 | 6,600 | 7,000 | 7,400 | 6,680 bc |
| LED Azul | 9,000 | 7,000 | 10,000 | 9,200 | 6,400 | 8,320 bc |
| LED Verde | 3,400 | 5,800 | 6,000 | 4,200 | 5,800 | 5,040 d |
| \bar{X} | 8,080 | 7,680 | 8,560 | 8,000 | 8,080 | |

LED*, C^{ns}, LEDxC^{ns}, coeficiente de variação: 31,14%

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo.

Ainda corroborando os resultados do presente trabalho, Rocha et al. (2013) relataram para a variedade RB872552 que as maiores taxas de brotações dos explantes foram para lâmpada LED vermelha, com resultados intermediários para LEDs azuis e verdes. Ferreira et al. (2016) relatam que a taxa de brotação foi significativamente maior com o uso de lâmpadas LEDs (5,58 brotos) em contraste com as fluorescentes (4,58 brotos), e em nosso estudo a lâmpada LED azul apresentou bom desempenho também para brotações, porém, não superou a lâmpada LED amarela e LED branca para a variedade RB867515 (FIGURA 5).

As lâmpadas LEDs estão sendo mais exploradas para espécies pertencentes a fruticultura e floricultura em ambientes *in vitro*, em comparação com a cultura da cana-de-açúcar, o que é nítido a escassez de trabalhos dentro da cultura estudada, mas, é importante acompanhar o que vem sendo realizado e relatado nas outras espécies, como é o caso de Façanha et al. (2018), ao analisarem a influência de diferentes tipos de luz na micropropagação de brotações de bananeira (cv Pacovan) no qual a maior média de brotações encontrada (57,47) foi para lâmpada LED vermelha (21 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$). Resultados estes que se assemelham ao encontrado por Pinheiro et al. (2019), onde as plantas cultivadas sob lâmpadas LEDs brancas e LEDs vermelhas/azuis, em meio MS acrescido com 0,1 mg L⁻¹ de ANA, induziram maior número de brotos em *Alpinia purpurata* cv. Red Ginger.

De acordo com a análise de variância, para a variável comprimento de parte aérea (CPA) da variedade RB855156 houve diferença significativa para a interação

entre qualidades de luz LED X concentrações de AIB ($p < 0,05$) (TABELA 7). As lâmpadas LED amarela e LED azul foram superiores apresentando maiores médias de comprimento de parte aérea, quando submetidas as diferentes qualidades de luz (6,19 cm e 6,11 cm) respectivamente, já para as concentrações de AIB dentro do fator luz, as maiores médias foram para 0 mg L⁻¹ e 0,50 mg L⁻¹ de AIB, respectivamente (TABELA 7).

TABELA 7- COMPRIMENTO DE PARTE AÉREA (CM) DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L ⁻¹) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|---------------------------|---------|----------|---------|---------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 5,272 | 5,102 | 5,068 | 4,316 | 5,126 | 4,970 AB |
| LED Amarela | 6,112 | 4,716 | 6,192 | 5,706 | 6,428 | 5,830 A |
| LED Vermelha | 8,042 | 4,252 | 4,586 | 4,716 | 4,326 | 5,180 AB |
| LED Azul | 6,890 | 4,948 | 6,442 | 6,008 | 5,048 | 5,860 A |
| LED Verde | 4,000 | 4,488 | 4,612 | 3,894 | 4,388 | 4,290 B |
| \bar{X} | 6,060 a | 4,700 b | 5,380 ab | 4,940 b | 5,006 b | |

LED*, C*, LEDxC*, coeficiente de variação: 23,29%

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

Ao estudarem o desempenho da variedade RB872552, Rocha et al. (2013), em diferentes fontes de iluminação (lâmpadas LEDs azul, vermelha e verde; Growlux e fluorescentes brancas) constataram que as lâmpadas LEDs azuis (28,4 mm), LED verdes (29,6 mm) e LED vermelho (33,3 mm), apresentaram maiores valores de comprimento de parte aérea, mas com a presença de diferentes concentrações de sacarose (variaram entre 31,6 a 33,9 g L⁻¹, dependendo da fonte de luz). Em nosso trabalho, também foi observado maiores comprimentos de parte aérea para os explantes submetidos à lâmpada LED azul (5,86 cm); LED amarela (5,83 cm); LED vermelha (5,18 cm) e a LED verde (4,29 cm), associados à diferentes concentrações de AIB, porém, para esta variável analisada, a ausência de AIB foi o melhor resultado, o meio de cultura usado também continha sacarose (30 g L⁻¹) (FIGURA 5K).

Silva et al. (2016) mencionam em seu trabalho com a variedade de cana-de-açúcar RB867515 que para comprimento de parte aérea, os tratamentos de lâmpadas LED azul/vermelho na proporção 50:50 apresentaram os melhores resultados em

meio de cultura acrescido com BAP, os nossos resultados mostram que as lâmpadas LED azul e LED vermelha, tiveram bons desempenhos para esta variável, mas somente a lâmpada LED azul foi superior. Não tínhamos lâmpadas na proporção 50:50 mas seria uma boa opção, pois, ambos espectros apresentaram bons resultados para esta variável.

É interessante analisarmos o comportamento de outras espécies utilizadas na tecnologia de iluminação LED, como o caso do morangueiro, onde Rocha et al. (2010), ao avaliaram o efeito de fontes de luz com níveis crescentes de BAP, para o comprimento das brotações em que o melhor resultado foi verificado com lâmpadas LED vermelha em meio isento de BAP, o que é contraditório com nossos resultados, pois a lâmpada LED vermelha apresentou valores inferiores para comprimento de parte aérea. Maluta et al. (2013), avaliaram o efeito de diferentes comprimentos de ondas no desenvolvimento *in vitro* de mudas da variedade CT-07, e estas apresentaram maiores comprimentos de parte aérea ao serem submetidas a lâmpadas do controle (4,45 cm) e em seguida, em lâmpadas LED 70% azul + 30% vermelha (4,00 cm) e 100% azuis (3,88 cm), entrando em concordância com os resultados obtidos nesse estudo com maiores valores para lâmpadas LEDs azuis (5,86 cm).

Ainda não se sabe ao certo os mecanismos da qualidade de luz LED amarela nas plantas, pois as mais comuns são LED vermelha e LED azul, mas, associa-se a presença de giberelina nos tecidos, a luz vermelha aumenta a transcrição de alguns genes para GA₃ oxidase, que podem estar modulando respostas, e ocorre a conversão de uma giberelina inativa (GA₂₀) em uma ativa (GA₁). É possível que o espectro luminoso da lâmpada LED amarela possa estar induzindo uma maior sensibilidade à giberelina ativa e, por isso, há respostas para o comprimento de parte aérea (MARTINEZ et al., 2002; MATSUMOTO et al., 2007).

De acordo com a análise de variância, para a variável massa fresca de parte aérea da variedade RB855156 houve interação significativa entre qualidades de luz LED X concentrações de IBA ($p < 0,05$). As lâmpadas LED amarela e LED branca foram superiores apresentando maiores médias de massa fresca de parte aérea, quando submetidas as diferentes qualidades de luz (1,85 g e 1,64 g), diferindo estatisticamente das lâmpadas LED azul (1,22 g), a qual não diferiu da lâmpada LED verde (0,69 g). Em relação ao fator concentrações de AIB nas lâmpadas LED, a

concentração que foi superior foi a de 0 mg L⁻¹ seguida de 0,25 mg L⁻¹ mas ambas não apresentaram diferenças estatísticas entre si, e as concentrações inferiores foram as de 0,50 mg L⁻¹; 0,75 mg L⁻¹ e 1 mg L⁻¹ as quais também não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

Já para a massa seca de parte aérea (MSPA) da variedade RB855156, de acordo com a análise de variância, houve diferença significativa para qualidades de luz LED ($p < 0,05$), já para o fator concentrações de AIB não houve diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$). A lâmpada LED amarela apresentou maior média de massa seca de parte aérea (0,3352 g), mas não diferiu da lâmpada LED branca (0,2768 g), a qual não apresentou diferença significativa da lâmpada LED azul (0,2750 g), as menores médias foram para lâmpadas LED verde (0,2020 g) e LED vermelha (0,1557g), as quais não diferiram estatisticamente entre si (TABELA 8).

TABELA 8- MASSA FRESCA E SECA DE PARTE AÉREA (g) DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L ⁻¹) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|---------------------------|----------|---------|---------|---------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 1,674 | 1,523 | 1,843 | 1,888 | 1,309 | 1,647 A |
| LED Amarela | 1,319 | 1,609 | 2,142 | 1,933 | 2,246 | 1,850 A |
| LED Vermelha | 1,002 | 0,802 | 0,632 | 0,572 | 0,461 | 0,914 C |
| LED Azul | 1,115 | 0,561 | 2,101 | 1,540 | 0,785 | 1,220 B |
| LED Verde | 0,715 | 1,153 | 1,151 | 0,673 | 0,903 | 0,694 BC |
| \bar{X} | 1,165 a | 1,130 ab | 1,574 b | 1,321 b | 1,141 b | |

LED*, C^{ns}, LEDxC*, coeficiente de variação: 38,2%

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

| Espectro Luminoso | AIB (mg L ⁻¹) | | | | | \bar{X} |
|-------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1 | |
| LED Branca | 0,251 | 0,241 | 0,310 | 0,258 | 0,322 | 0,276 ab |
| LED Amarela | 0,286 | 0,241 | 0,390 | 0,363 | 0,349 | 0,335 a |
| LED Vermelha | 0,217 | 0,193 | 0,174 | 0,224 | 0,200 | 0,155 c |
| LED Azul | 0,287 | 0,229 | 0,291 | 0,321 | 0,244 | 0,275 b |
| LED Verde | 0,098 | 0,177 | 0,176 | 0,140 | 0,185 | 0,202 c |
| \bar{X} | 0,228 | 0,225 | 0,268 | 0,261 | 0,260 | |

LED*, C^{ns}, LEDxC^{ns}, coeficiente de variação: 30,7%

Fonte: Zanatta (2021). * Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

No trabalho de Maluta et al. (2013) com micropropagação da variedade CT-07 sob diferentes lâmpadas LED, os autores analisaram massa fresca e seca de parte aérea e encontraram os melhores resultados de massa fresca ao utilizarem lâmpadas LED 70% vermelha + 30% azul (16,73 g); fluorescente branca (16,94 g) e LED vermelha (16,32 g), o que se repete para massa seca LED 70% vermelha + 30% azul (0,93 g); fluorescente branca (0,86 g) e LED vermelha (0,80 g). Contrastando com o que constatamos em nosso estudo, para a variedade RB855156, em que os melhores resultados de massa fresca e seca foram para LED amarela (1,85 g e 0,33 g) e LED branca (1,64 g e 0,27 g), respectivamente.

É importante que seja realizada a associação aos fotorreceptores e seus componentes quando se trata de pesquisas com diferentes intensidades luminosas. Os CRYs são receptores fotossensoriais, que se encontram associados aos fitocromos, e estes regulam o crescimento, desenvolvimento e também o relógio circadiano em plantas e animais. As plantas dependem desses CRYs e outros fotorreceptores para detectar sinais ambientais como irradiância, transição dia-noite, fotoperíodos e qualidade de luz para um crescimento e desenvolvimento ideais (TAIZ; ZEIGER, 2017).

Muitos dos genes alvo de CRY1 e HY5 codificam proteínas de sinalização que funcionam nos fitohormônios, como auxina, brassinosteróide (BR) e ácido giberélico (GA), enzimas que catalisam a síntese e degradação de componentes da parede celular e enzimas fotossintéticas e metabólicas. A abundância alterada dessas proteínas de sinalização e enzimas metabólicas pode, pelo menos parcialmente, explicar as mudanças morfológicas mediadas por CRY1 de mudas jovens em resposta à luz, principalmente para a luz azul (CHAVES et al., 2011).

Poderíamos ter tido resultados mais satisfatórios no presente experimento de enraizamento, mas acreditamos que por terem sido utilizados explantes que permaneceram em manutenção até o 9º subcultivo, em meio MS acrescido com BAP (6 benzilaminopurina), possa ter influenciado nos resultados de enraizamento, mesmo estes tendo passado por 15 dias em meio MS ½ força, para neutralizar os efeitos do meio de cultura em que estavam.

Acredita-se que os efeitos do BAP possa ter influenciado nos efeitos de AIB no enraizamento pois baixas concentrações, ou até mesmo a ausência da auxina em algumas espécies de plantas, são suficientes para que ocorra o enraizamento *in vitro*, já em outras espécies de plantas, como no caso a do presente estudo, percebe-se que é necessário que ocorra uma regulação antagonista entre os fitorreguladores AIB e BAP, para um enraizamento eficaz (COUTO et al., 2020; RIBEIRO et al., 2021).

A eficiência biológica dos reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura é diretamente afetada pelos espectros de luz, além disso, o equilíbrio hormonal nos tecidos, e com isso torna-se uma possível ferramenta de manipulação do equilíbrio fisiológico para a obtenção de algumas respostas específicas da cultura de interesse (RODRIGUES et al., 2020). Com isso, este trabalho buscou testar concentrações de AIB os explantes de cana-de-açúcar submetidos a diferentes qualidades de luz, para que fosse possível analisar as respostas da variedade RB5156 sob essas condições, e quem sabe, formular um protocolo mais objetivo para a produção de mudas saudáveis, associando iluminação e reguladores de crescimento.

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados pode-se concluir que:

O uso de diodos emissores de luz (LED) associado ao meio MS para indução de brotações e porcentagem de enraizamento para variedade RB855156 mostrou-se mais eficiente para a lâmpada LED amarela.

Lâmpadas LED brancas foram as mais eficientes para alguns pigmentos fotossintéticos, neste caso para clorofila total, e para os carotenoides a lâmpada LED branca e azul foram mais eficientes.

Em relação ao enraizamento, a lâmpada LED amarela, LED branca e azul foram as mais eficientes. Para a concentração de AIB, recomenda-se o uso de 0,50 mg L⁻¹.

Considerações Finais

Por ser uma tecnologia inovadora, há muito o que se explorar no ramo da micropropagação associado às lâmpadas LED, portanto, para pesquisas futuras seria interessante a análise de alguns pontos:

- Avaliar o efeito de combinações de lâmpadas LED na mesma fita condutora de luz;
- Analisar os aspectos anatômicos vegetais que as lâmpadas LED podem influenciar nas estruturas tanto foliares quanto de raiz (teor de fibras para a produção de etanol de segunda geração);
- Mensurar componentes químicos e fenólicos da cana-de-açúcar sob lâmpadas LED.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. G. F.; GRASSI, M. C. B.; DE CARVALHO, L. M.; DA SILVA, J. J. B.; OLIVEIRA, J. V. C.; BRESSIANI, J. A.; PEREIRA, G. A. G. Energy cane vs sugarcane: Watching the race in plant development. **Industrial Crops and Products**, v.156, p.1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112868>, 2021.
- AGIELLO, K. K.; NOWAKOWSKA, K.; ILCZUK, A. Optimizing micropropagation conditions for a recalcitrant ninebark (*Physocarpus opulifolius* L. maxim.) cultivar. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v.57, p.281-295. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10154-0>, 2021.
- ALCANTARA, G. B. DE; MACHADO, M. P.; RIBEIRO, D. DE S.; WIPPEL, H. H.; BESPALHOK FILHO, J. C.; OLIVEIRA, R. A. DE; DAROS, E. Multiplicação, alongamento e enraizamento de brotações *in vitro* de clones de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina e ácido giberélico. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Tocantins, v.5, p.20-25. DOI: <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v5n1.alcantara>, 2020.
- ALI, A.; NAZ, S.; SIDDIQUI, F. A.; IQBAL, J. An efficient protocol for large scale production of sugarcane through micropropagation. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, p.139-149. ISSN: 0556-3321, 2020.
- AMIRI, S.; MOHAMMADI, R.; AKBARI, R. The Effects of cytokinin and auxin interactions on proliferation and rooting of seedless grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Sultanine'. **Erwerbs-Obstbau**, v.61, p.85-92. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10341-019-00456-y>, 2020.
- BADR, A.; ANGERS, P.; DESJARDINS, Y. Comprehensive analysis of *in vitro* to *ex vitro* transition of tissue cultured potato plantlets grown with or without sucrose using metabolic profiling technique. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.122, p.491–508. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0786-3>, 2019.
- BAIRU, M. W; FENNELL, C. W; VAN, S. J. The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in *Cavendish banana* (*Musa* AAA cv. 'Zelig'). **Scientia Horticulturae**, v.108, p.347-351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.039>, 2019.
- BANTIS, F.; SMIRNAKOU, S.; OUZOUNIS, T.; KOUKOUNARAS, A.; NTAGKAS, N.; RADOGLU, K. Current status and recent achievements in the field of horticulture with

the use of light-emitting diodes (LEDs). **Scientia Horticulturae**, v.23, p.437–451. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.058>, 2019.

BARBOSA, G. V. S.; OLIVEIRA, R. A.; CRUZ, M. M.; SANTOS, J. M.; SILVA, P. P.; VIVEIROS, A. J. A.; SOUSA, A. J. R.; RIBEIRO, C. A. G.; SOARES, L.; TEODORO, I.; SAMPAIO FILHO, F.; DINIZ, C. A.; TORRES, V. L. D. RB99395: Sugarcane cultivar with high sucrose content. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.15, p.187-190. DOI: <https://doi.org/10.1590/1984-70332015v15n3c32>. 2020.

BELLINI, C.; PACURAR, D. I.; PERRONE, I. Adventitious roots and lateral roots: Similarities and differences. **Annual Review of Plant Biology**, v.65, p.639–666. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035645>, 2014.

BUDIARTO, K. Spectral quality affects morphogenesis on anthurium plantlet during *in vitro* culture. **AGRIVITA, Journal of Agricultural Science**, v.32, p.234-240. DOI: <http://doi.org/10.17503/agrivita.v32i3>, 2020.

BURGIE, E. S.; BUSSELL, A. N.; WALKER, J. M.; DUBIEL, K.; VIERSTRA, R. D. Crystal structure of the photosensing module from a red/far-red light-absorbing plant phytochrome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.111, p.10179-10184. DOI:10.1073/pnas.140309611, 2014

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, O.; FERREIRA, M. E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.1). Cultura de tecidos e Transformação Genética de Plantas. Brasília, DF. **Embrapa- cnph**, v.1, p.87-132,1998.

CALVETE, E. O.; KAMPF, A. N.; SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.186-191. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000200014>, 2002.

CAMARGO, S. S.; RODRIGUES, D. B.; RODRIGUES, C. M.; ASSIS, A. M. de; FARIA, R. T. de; SCHUCH, M. W. Fitorreguladores e espectros de luz na micropropagação de *Oncidium baueri* Lindl. **Ciência Rural**, v.45, p.2007-2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr2014178>, 2015.

CANÇADO, G. M. A. Cultivo de plantas *in vitro* e suas aplicações. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.30, p.64-74, 2009.

CARDOSO, J. C.; SHENG, G. L. T.; TEIXEIRA DA SILVA, J. A. Micropropagation in the twenty-first century. In: VARGAS, L., M., V.; ALEJO, O., N. (Ed.1). **Plant Cell Culture Protocols-Methods in Molecular Biology**. New Jersey: Springer, 2018. v.1815, p.1-30.

CARNEIRO, M. S.; CHAPOLA, R. G.; FERNANDES JÚNIOR, A. R.; CURSI D. E., BARRETO, F. Z.; BALSALOBRE, T. W. A.; HOFFMANN, H. P. RB975952 – Early maturing sugarcane cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.15, p.193-196. DOI: <https://doi.org/10.1590/1984-70332015v15n3c34>, 2015.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. D. M.; LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A. M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, p.822-828. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000800006>, 2019.

CARVALHO, M. F. C. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. Fatores inerentes à micropropagação. **Embrapa algodão**, Campina Grande, 2006.

CARVALHO, D. C.; SILVA, A. L. L.; SCHUCK, M. R.; PURCINO, M.; TANNO, G. N.; BIASI, L. A. Fox grape cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) and grapevine cv. Chardonnay (*Vitis vinifera* L.) cultivated *in vitro* under different carbohydrates, amino acids and 6-benzylaminopurine levels. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.56, p.191-201. DOI: 10.1590/S1516-89132013000200004, 2013.

CASTILLO, A.; CARRAU, J.; LEONI, C.; PEREIRA, G. Investigación en arandanos en Uruguay: propagación *in vitro* y evaluación de variedades por INIA. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2., 2004. ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 2004, Pelotas, RS. **Anais e palestras**, Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004.p. 2-12.

CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.1281-1287. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000600024>, 2005.

CHAVES, I.; POKORNY, R.; BYRDIN, M.; HOANG, N.; RITZ, T.; BRETTEL, K.; ESSEN, L. O.; VAN DER HORST, G. T. J.; BATSCHAUER, A.; AHMAD, M. The cryptochromes: Blue light photoreceptors in plants and animals. **Annual Review of Plant Biology**, v.62, p.335-364. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103759>, 2011.

CHEN, L.; LU, Y.; HU, Y. RNA-Seq reveals that sucrose-free medium improves the growth of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.140, p.1-17. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01743-y>, 2020.

CHENGALRAYAN, K.; GALLO-MEAGHER, M. Effect of various growth regulators on shoot regeneration of sugarcane. **In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant**, v.37, p.434-439. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0076-0>, 2001.

CHENGALRAYAN, K.; ABOUZID, A.; GALLOMEAGHER, M. *In vitro* regeneration of plants from sugarcane seed-derived callus. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v.41, p.47-482. DOI:10.1079/IVP2005655, 2005.

CHRISTOPHER, B. D.; CAROLYN, E. M.; MARIANNA, A. B.; KENNETH, W. B. Determination of capsaicinoids in habanero peppers by chemometric analysis of UV spectral data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.5925-5933. DOI: 10.1021 / jf070413k2007, 2007.

CIDADE, A. P.; GARCIA, R. O.; DUARTE, A. C.; MARTINS, G.; MANSUR, E. Morfogênese *in vitro* de variedades brasileiras de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.41, p.385-391. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000300003>, 2006.

COUTO, T. R.; DO ARAUJO, J. S. DE P.; ALMEIDA, L. M.; DE AGUILAR, J. P. L. Enraizamento *in vitro* de cultivares de *Gerbera hybrida* (Asteraceae). **Revista Científica Rural**, v.22, p.125-139. DOI: <https://doi.org/10.30945/rcr-v22i1.3207>, 2020.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: Cana-de-açúcar. Safra 2018/2019. Quarto levantamento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>. Brasília: **CONAB**. Acesso em: abril/2020. 2020.

CUI, X. H.; MURTHY, H. N.; WU, C. H.; PAEK, K. Y. Sucrose-induced osmotic stress affects biomass, metabolite, and antioxidant levels in root suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.103, p.7-14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9747-z>, 2010.

DA COSTA, C. T.; DE ALMEIDA, M. R.; RUEDELL, C. M.; SCHWAMBACH, J.; MARASCHIN, F. S.; FETT-NETO, A. G. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. **Frontiers in Plant Science**, v.4, p.1-19. DOI:10.3389/fpls.2013.00133, 2013.

DE ALCANTARA, G. B.; DIBAX, R.; DE OLIVEIRA, R. A.; BESPALHOK FILHO, J. C.; DAROS, E. Regeneração e análise histológica de embriogênese somática de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) cultivares RB855156 e RB72454. **Acta Scientiarum – Agronomy**, v.36, p.1-10. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i1.16342>, 2014.

DIAS, M. O. S.; JUNQUEIRA, T. L.; CAVALETT, O.; CUNHA, M. P.; JESUS, C. D. F.; MANTELATTO, P. E.; ROSSELL, C. E. V.; MACIEL FILHO, R.; BONOMI, A. Cogeneration in integrated first and second generation ethanol from sugarcane. **Chemical Engineering Research and Design**, v.91, p.411-1417. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2013.05.009>, 2013.

DE HSIE, B. S.; BUENO, A. I. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; DE CARVALHO, A. A.; DA CUNHA, S. H. B.; MARTINS, E. R.; PINTO, J. E. B. P. Study of the influence of wavelengths and intensities of LEDs on the growth, photosynthetic pigment, and volatile compounds production of *Lippia rotundifolia* Cham *in vitro*. **Journal of Photochemistry and Photobiology- Biology**, v.198, p.111-577. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111577>, 2019.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 130 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/handle/1/2906?locale=en>. Acesso em: 27 março. 2021.

DO NASCIMENTO VIEIRA, L.; DE FREITAS FRAGA, H. P.; DOS ANJOS, K. G.; PUTTKAMMER, C. C.; SCHERER, R. F.; DA SILVA, D. A.; GUERRA, M. P. Light-emitting diodes (LED) increase the stomata formation and chlorophyll content in *Musa acuminata* (AAA) ‘Nanicão Corupá’ *in vitro* plantlets. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v.27, p.91-98. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40626-015-0035-5>, 2015.

DOGAN, M. Effect of pre-treatment of zeatin on multiple shoot regeneration from leaf explants of aquatic plant *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. **Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences**, v.4, p.161-165. DOI: <https://doi.org/10.35229/jaes.557425>, 2019.

DUTTA G. S.; KARMAKAR, A. Machine vision based evaluation of impact of light emitting diodes (LEDs) on shoot regeneration and the effect of spectral quality on phenolic content and antioxidant capacity in *Swertia chirata*. **Journal of Photochemistry and Photobiology- Biology**, v.174, p.162-172. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.029>, 2017.

EMBRAPA PELOTAS. Protocolo de micropropagação em cana-de-açúcar. **Circular Técnica**, p.1-8. ISSN 1516-8832. Pelotas, 2011.

FAÇANHA, D. C.; SILVA, E. J.; SANTOS, C. A.; PEREIRA, M. C. N.; LOPES, R., QUISEN, R. C. Efeitos de diferentes tipos de luz na micropropagação de brotações de bananeira cultivar Pacovan. **Anais da XV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental**, 2018.

FAO (Food and Agriculture Organization). **Food and Agriculture Organization, Faostat**. Available online at (<http://faostat.fao.org/>), 2020.

FERREIRA, L. T.; SILVA, M. M. DE A.; MACÊDO, C. R. D.; WILLADINO, L. Light source and sucrose concentration on *in vitro* culture of sugarcane (RB 867515). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.12, p.46-52. DOI: <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v26i1.2112>, 2016.

FERREIRA, L. T.; DE ARAÚJO SILVA, M. M.; ULISSES C.; CAMARA T. R.; WILLADINO L. 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**, v.128, p.211-221. 10.1007/s11240-016-1101-7, 2017.

FORTINI, E. A.; BATISTA, D. S.; MAMEDES R. T. C. Gas exchange rates and sucrose concentrations affect plant growth and production of flavonoids in *Vernonia condensata* grown *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.144, p.593-605. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01981-5>, 2021.

FRANCO, M. C. **Micropropagação e transformação genética de pinhão-mansô (J. curcas L.)**. 67 f. Dissertação (Mestrado Agronomia) - Instituto Agronômico, Campinas, 2013. Disponível em: <<http://www.pggenetica.icb.ufmg.br/defesas/109M.PDF>>. Acesso em 10 agosto. 2020.

FRASZCZAK, B.; ANNA GOLCZ, A.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R.; JANOWSKA, B. Growth rate of sweet basil and lemon balm plants grown under fluorescent lamps and led modules. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v.13, p.3-13. ISSN:1644-0692, 2014.

GARCÍA, M. J. L.; GIL, J. Light regulation of gibberellin biosynthesis and mode of action. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.20, p.354-368. DOI: 10.1007/s003440010033, 2002.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. 3 ed. Dordrecht: **Springer**, 1993. v.1, p.479, 1993.

GOEL, Y.; SINGH, V.P.; LAL, M. In vitro morphogenesis in leaf sheath explants of sugarcane hybrid var. CoS 99259. **Sugar Tech**, v.12, p.172-175. DOI: 10.1007/s12355-010-0033-5, 2010.

GUPTA, N.; JAIN V.; ROSY, M. J.; DEVI, S. A Review on Micropropagation Culture Method. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, v.8, p.86-93. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i1.653>, 2020.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, DF: **Embrapa**; v.1, p.183-260, 1998.

- GROUNT, B. W. W. Photosynthesis of regenerated plantlets *in vitro* and the stress of transplanting. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.230, p.129-134. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1988.230.13>, 1998.
- HAISSIG, B. E. Meristematic activity during adventitious root primordium development: influences of endogenous auxin and applied gibberellic acid. **Plant Physiology**, v.49, p.886–892, DOI: 10.1104 / pp.49.6.886, 1972.
- HARTMANN, H. T. **Plant propagation: principles and practices**. 7 ed. New Jersey: **Prentice Hall**, p.880, 2002.
- HERINGER, A. S.; REIS, R. S.; PASSAMANI, L. Z.; FILHO, G. A. S.; CATARINA, C. S.; SILVEIRA V. Comparative proteomics analysis of the effect of combined red and blue lights on sugarcane somatic embryogenesis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.39, p.1-52, DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2349-1>, 2017.
- HERNÁNDEZ, R., KUBOTA, C. Growth and morphological response of cucumber seedlings to supplemental red and blue. **Scientia Horticulturae Journal**, v.173, p.92-99. DOI: 10.1016/j.scienta.2014.04.035, 2014.
- HUAN, L. V. T.; TANAKA, M. Callus induction from protocorm-like body segments and plant regeneration in *Cymbidium* (Orchidaceae). **Scientia Horticulturae Journal**, v.79, p.406-410. DOI:10.1080/14620316.2004.11511781, 2004.
- HUNG, C. D.; HONG, C. H.; KIM, S. K.; LEE, K. H.; PARK, J. Y.; NAM, M. W.; CHOI, D. H.; LEE, H. I. Led light for *in vitro* and *ex vitro* efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v.38, p.1-9. DOI:10.1007/s11738-016-2164-0, 2016.
- HUSAIN, M., K.; ANIS, M. Rapid *in vitro* multiplication of *Melia azedarach* L. (a multipurpose woody tree). **Acta Physiologiae Plantarum**, v.31, p.765-772. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0290-7>, 2009.
- JESUS, H. I. Development and gas exchange of pre-sprouted sugarcane seedlings in three diferente growing substrate media. **Journal of Experimental Agriculture International**, v.32, p.1-7. DOI:<http://dx.doi.org/10.9734/jeai/2019/v32i430114>, 2019.
- JO, E. A.; TEWARI, R. K.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.96, p.307-315. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9488-4>, 2009.
- KAHN, I. A.; DAHOT, M. U.; YASMIN, S.; KHATRI, A.; SEEMA, N.; NAQVI, M. Effect of sucrose and growth regulators on the micropropagation of sugarcane clones. **Pakistan Journal of Botany**, v.38, p.961-967. ISSN: 0556-3321, 2006.
- KAMI, C.; LORRAIN, S.; HORNITSCHKEK, P.; FANKHAUSER, C. Light-regulated plant growth and development. **Current Topics in Developmental Biology**, v.91, p.29-66. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/ S0070 2153\(10\)91002-8](http://dx.doi.org/10.1016/ S0070 2153(10)91002-8), 2010.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., p.431, 2008.
- 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. DOI:10.1016/j.scienta.2003.10.003, 2004.

KITAYA, Y.; OHMURA, Y.; KUBOTA, C.; KOZAI, T. Manipulation of the culture environment on *in vitro* air movement and its impact on plantlets photosynthesis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.83, p.251-257. DOI: 10.1007/s11240-005-6839-2, 2005.

KOETLE, M. J.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. *In vitro* regeneration in *Dierama erectum* Hilliard. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.103, p.23-31. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9749>, 2010.

KOZAI, T.; SEKIMOTO, K. Effect of the number of air exchanges per hour of the closed vessel and the photosynthetic photon flux on the carbon dioxide concentration inside the vessel and the growth of strawberry plantlets *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.110, p.227-238. DOI:10.2525/ecb1963.26.21,1988.

KUAMR, N.; REDDY, M. P. Plant regeneration through the direct induction of shoot buds from petiole explants of *Jatropha curcas*: a biofuel plant. **Annals of Applied Biology**, v.156, p.367-375. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00394.x>, 2010.

KURILČIK, A.; MIKLUŠYTĚ-ČANOVA, R.; DAPKŪNIENĖ, S.; ŽILINSKAITĖ, S.; KURILČIK, G.; TAMULAITIS, G.; DUCHOVSKIS, P.; ŽUKAUSKAS, A. *In vitro* culture of Chrysanthemum plantlets using light-emitting diodes. **Central European Journal of Biology**, v.3, p.161-167. DOI: <https://doi.org/10.2478/s11535-008-0006-9>, 2008.

KWON, J. H.; PARK, Y. S.; KIM, S. H.; HEO, J. Y. Evaluation of genetic stability and effects of plant growth regulators for *in vitro* propagation of underutilized *Vitis amurensis* "Cheongsan." **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v.47, p.987-994. DOI: <https://doi.org/10.15835/nbha47311599>, 2019.

LAZZARINI, L. E. S.; PACHECO, F. V.; SILVA, S. T.; COELHO, A. D.; MEDEIROS, A. P. R.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; SOARES, J. D. R. Use of light-emitting diode (Led) in the physiology of cultivated plants - review. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.16, p.137-144, DOI: <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v16n1p137-144>, 2017.

LEITE, G. B.; FINARDI, N.; FORTES, G. R. L. Efeitos 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 Agrotécnica**, v.24, p.353-357, 2000.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de amoreira-preta 'Xavante': efeito da concentração de sais, do tipo de explante e de carvão ativado no meio de cultura. **Ciência Agrotecnologia**, v.33, p.1959-1966, DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000700045>, 2009.

LEMBRECHTS, R.; CEUSTERS, N.; DE PROFT, M. P., CEUSTERS, J. Sugar and starch dynamics in the medium-root-leaf system indicate possibilities to optimize plant tissue culture. **Scientia Horticulturae**, v.224, p.226-231. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.06.015>, 2017.

LEMES, C. S. R.; SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; ROSA, Y.; Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia flavescens*. **Ciência Rural**, v.46, p.499-505. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150368>, 2016.

LEMONS, E. E. P.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Micropropagação da cana-de-açúcar. In: **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**, Brasília, DF: Embrapa, p.279-308, 2013.

LI, H.; XU, Z.; TANG, C. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.103, p.155-163. DOI: 10.1007/s11240-010-9763-z, 2010.

LIMA, G. V.M. **Ação de auxinas e cofatores fenólicos no enraizamento *in vitro* de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Botânica. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2010. Disponível em: <<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/4817>>. Acesso em: 18 set. 2020.

LIU, Y.; XU J.; DING, Y.; WANG, Q.; LI G.; WANG, S. Auxin inhibits the outgrowth of tiller buds in rice (*Oryza sativa* L.) by downregulating OsIPT expression and cytokinin biosynthesis in nodes. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, p.169-174. ISSN:1835-2707, 2011.

LIU, L. H.; ZABARAS, D.; BENNETT, L. E.; AGUAS, P.; WOONTON, B. W. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. **Food Chemistry**, v.115, p.495-500. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.042>, 2009.

MALUTA, F. A.; BORDIGNON, S. T.; ROSSI, M. L.; AMBROSANO, G. M. B.; RODRIGUES, P. H. V. Cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar exposta a diferentes fontes de luz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.1303-1307. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000900015>, 2013.

MANTOVANI, N. C.; GRANDO, M. F.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Resgate vegetativo por alporquia de genótipos adultos de urucum (*Bixa orellana* L.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v.20, p.403-410. DOI: <https://doi.org/10.5902/198050982055>, 2010.

MATSUMOTO, K.; CALDAS, L. Stimulation of banana *in vitro* shoot growth by yellow-cellophane-film shading. **Fruits**, v. 62, p.143-148. DOI:10.1051/fruits:2007009, 2007.

MASSA, G.D.; KIM, H. H.; WHEELER, R. M.; MITCHELL, C. A. Plant productivity in response to LED lighting. **Horticulturae Science**, v.43, p.1951-1956. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1951>, 2008.

MOCKAITIS, K.; ESTELLE, M. Auxin receptors and plant development: A new signaling paradigm. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v.24, p.55-80. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123214>, 2008.

MORELLI, G.; RUBERTI, I. Shade Avoidance Responses. Driving auxin along lateral routes. **Plant Physiology**, v.122, p.621-626, DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.122.3.621>, 2000.

MOTHÉ, G. P. B.; NETTO, A. T.; CRESPO, L. E. C.; CAMPOTRINI, E. Eficiência fotoquímica e características de crescimento da cana-de-açúcar (*Saccharum*

officinarum L.) cultivada *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose e qualidade de luz. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, v.4, p.84-91, 2008.

MULEO, R.; MORINI, S.; CASANO, S. Photoregulation of growth and branching of plum shoots: Physiological action of two photosystems. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, v.37, p.609-617. DOI: 10.1079/IVP2001186, 2001.

MUNEER, S.; KIM, E. J.; PARK, J. S.; LEE, J. H. Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v.15, p.4657-4670. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms15034657>, 2014.

NAIK, S., R.; KUMAR, M. H.; NAIDU, N., V.; LATHA, P. Yield Comparisons: Tissue Culture Seedlings versus Single Bud Setts. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.7, p.2310-2315. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.711.260>, 2018.

NICCHIO, B.; CARDOZO, C. C.; VIEIRA, M. A. M. Efeitos de substratos na qualidade de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v.15, p.1-6. DOI: <https://doi.org/10.12661/pap.2020.001>, 2020.

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C.; RUSSOWSKI, D.; MARTINS, C. F. Efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.84-90. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542003000100010>, 2003.

NOGUEIRA, G.F. **Regeneração, conservação *in vitro* e estabilidade genômica em cana-de-açúcar**. 2013. 195 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2013. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1061/3/TESE_Regenera%C3%A7%C3%A3o%20conserva%C3%A7%C3%A3o%20in%20vitro%20e%20estabilidade....pdf>. Acesso em: 30 de abril 2021.

OLLE, M.; VIRŠILE, A. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. **Agricultural and Food Science**, v.22, p.223-234. DOI: <https://doi.org/10.23986/afsci.7897>, 2013.

OLIVEIRA, H. P.; MELO, O. R.; BALDOTTO, M. A., ANDRADE, M. A., BALDOTTO, L. E. B. Performance of pre-sprouted sugarcane seedlings in response to the application of humic acid and plant growth-promoting bacteria. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.9, p.1365-1370. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n3p1365>, 2018.

OLIVEIRA, K. C. **Caracterização genotípica de plantas matrizes de cafeeiros e de suas progêneses clonais obtidas por embriogênese somática**. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto Agronômico, Campinas, 2012. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/repositorio/storage/pb1210610.pdf>>. Acesso em: 12 de fev. de 2021.

OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.33, p.439-453, 2013.

- PACURAR, D. I.; PERRONE, I.; BELLINI, C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. **Physiologia Plantarum**, v.151, p.83-96. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.12171>, 2014.
- PALÚ, E. G.; CORRÊA, C. L. S.; SUZUKI, A.; BOLIANE, A. C. Uso de antibióticos para o controle de bactérias endógenas visando à micropropagação da figueira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.587-592. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000200031>, 2011.
- PARK, S. H.; ELHITI, M.; WANG, H.; XU, A.; BROWN, D.; WANG, A. Adventitious root formation of *in vitro* peach shoots is regulated by auxin and ethylene. **Scientia Horticulturae**, v.226, p.250-260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.053>, 2017.
- PASA, M. DA S.; CARVALHO, G. L.; SCHUCH, M. W.; SCHMITZ, J. D.; TORCHELSEN, M. DE M.; NICKEL, G. K.; SOMMER, L. R.; LIMA, T. S.; CAMARGO, S. S. Qualidade de luz e fitorreguladores na multiplicação e enraizamento *in vitro* da amoreira-preta "Xavante". **Ciência Rural**, v.42, p.1392-1396. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0103-84782012000800010>, 2012.
- PHILLIPS, G. C.; GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: an overview. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v.55, p.242-257. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>, 2019.
- PINHEIRO, M. V. M.; SCHMIDT, D.; DIEL, M. I.; DOS SANTOS, J.; THIESEN, L. A.; DE AZEVEDO, G. C. V.; HOLZ, E. *In vitro* propagation of alpinia cultivars in different light sources. **Ornamental Horticulture**, v.25, p.49-54. DOI: <https://doi.org/10.14295/oh.v25i1.1255>, 2019.
- PINTO, L. E. V.; SPÓSITO, T. H. N.; GODINHO, A. M. M.; MARTINS, F. B. Produção de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar em função de diferentes substratos. **Colloquium Agrariae**, v.12, p.93-99, DOI: <http://dx.doi.org/10.5747/ca.2016.v12.nesp.000177>, 2016.
- REDAE, M., H.; AMBAYE, T., G. *In Vitro* propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) variety C86-165 through apical meristem, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.14, p.228-234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.03.005>, 2018.
- RIBEIRO, C. H. M.; CARLOS, R. P.; BONIFÁCIO, T. C.; MAIA, M. Actuation of bap's performance in the *in vitro* rooting of red pitaya explants (*Hylocereus undatus*), **Revista Científica Rural**, v.23, p.31-43. DOI: <https://doi.org/10.30945/rcr-v23i1.3982>, 2021.
- RIDESA- Rede Interuniversitária Para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético. 2020. Censo Varietal Brasil 2017/18. Disponível em: <<https://www.ridesa.com.br/censo-varietal>>. Acesso em: 16 maio 2021, 2021.
- ROCHA, P. S. G.; AMARAL, S. A.; MOSELE, S. H.; CANOVA, D. V. Diferentes intensidades de fluxo de fótons com LEDs no enraizamento *in vitro* de cana-de-açúcar. **Perspectiva**, v.42, 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. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010000900011>, 2010.

- ROCHA, P. S. G.; DA, OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. Sugarcane micropropagation using light emitting diodes and adjustment in growth-medium sucrose concentration. **Ciência Rural**, v.43, p.1168-1173. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0103-84782013000700005>, 2013.
- RODRIGUES, D. B.; RADKE, A. K.; SOMMER, L. R.; DA ROSA, D. S. B.; SCHUCH, M. W.; DE ASSIS, A. M. Quality of light and indolbutyric acid *in vitro* rooting of lavender. **Ornamental Horticulture**, v.26, p.89-94. DOI: <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v26i1.2112>, 2020.
- RODRÍGUEZ, S. A.; ACEVEDO, H. G.; RODRÍGUEZ, D. J. M. Effect of light quality and culture medium on somatic embryogenesis of *Agave tequilana* Weber var. azul. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.104, p.271-275, 2011.
- SAMUOLIENĖ, G.; VIRŠILĖ, A.; BRAZAITYTĖ, A.; JANKAUSKIENĖ, J.; SAKALAIŠKIENĖ, S.; VAŠTAKAITĖ, V.; NOVIČKOVAS, A.; VIŠKELIENĖ, A.; SASNAUSKAS, A.; DUCHOVSKIS, P. Blue light dosage affects carotenoids and tocopherols in microgreens. **Food Chemistry Journal**. v.228, p.50-56. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.144>, 2017.
- SAKHANOKHO, H. F.; ISLAM F. N.; BABIKER, E., M. Micropropagation of *Hibiscus moscheutos* L. 'Luna White': effect of growth regulators and explants on nuclear DNA content and ploidy stability of regenerants. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, v.57, p.1-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10209-w>, 2021.
- SALOKHE, S. Development of an efficient protocol for production of healthy sugarcane seed cane through meristem culture, **Journal of Agriculture and Food Research**, v.4, p.100-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100126>, 2021.
- SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O. Sacarose na fase de enraizamento *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. **Scientia Agraria**, v.8, p.25-31. DOI: [10.5380/rsa.v8i1.8338](https://doi.org/10.5380/rsa.v8i1.8338), 2007.
- SHARAKSHANE, A. An easy estimate of the PFDD for a plant illuminated with white LEDs: $1000 \text{ lx} = 15 \text{ } \mu\text{mol/s/m}^2$. **BioRxiv**, v.5, p.1-7. DOI: <https://doi.org/10.1101/289280>, 2018.
- SHIMIZU, S. S.; HUQ, E., TEPPERMAN, J.M.; QUAIL, P.H. A light-switchable gene promoter system. **Nature Biotechnology**, v.20, p.1041-1044. DOI: [10.1038/nbt734](https://doi.org/10.1038/nbt734), 2002.
- SHUKLA, M. R.; SINGH, A. S.; PIUNNO, K. Application of 3D printing to prototype and develop novel plant tissue culture systems. **Plant Methods**, v.13, p.1-6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0156-8>, 2017.
- SILVA, M. M. A.; DE OLIVEIRA, A. L. B.; OLIVEIRA-FILHO, R. A.; GOUVEIA-NETO, A. S.; CAMARA, T. J. R.; WILLADINO, L. G. Effect of blue/red LED light combination on growth and morphogenesis of *Saccharum officinarum* plantlets *in vitro*. **Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XII**, v.88947, p.1-9. DOI: <https://doi.org/10.1117/12.2036200>, 2014.
- SIMLAT, M.; ŚLĘZAK, P.; MOŚ, M.; WARCHOŁ, M.; SKRZYPEK, E.; PTAK, A. The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Scientia Horticulturae**, v.211, p.295-304. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.009>, 2016.

SISAY, S. A.; MEKBIB, F.; GEBRE, E. An investigation of meristem culture in Anchote [*Coccinia abyssinica* (Lam.) Cong.] under the influence of plant growth regulators and media strength. **African Journal of Biotechnology**, v.19, p.806-813. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB2018.16721,2020>.

SILVA, M. M. A.; DE OLIVEIRA, A. L. B.; OLIVEIRA-FILHO, R. A.; CAMARA, T.; WILLADINO, L.; GOUBEIA, N. A. The effect of spectral light quality on *in vitro* culture of sugar cane. **Acta Scientiarum-Biological Sciences**, v.38, p.57–161. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascibiols.v38i2.31109, 2016>.

SILVA, K. B.; REINIGER, S. R. L.; STEFANEL, M. C.; RABAIOLLI, S. M. S. Sucrose and substrates on the acclimatization of micropropagated *Luehea divaricata* plants. **Floresta e Ambiente**, v.27, p.1-9. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.117017, 2020>.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; MALDANER, J. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (spreng) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, v.36, p.1416-1423. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000500011,2006>.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.103-116, 2007. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/69962>>.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MØLLER, I. M., MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Artmed Editora, 2017.

TATRA, G. S.; MIRANDA, J.; CHINNAPPA, C. C.; REID, D. M. Effect of light quality and elongation in 5-azacytidine on two ecotypes of genomic *Stellaria methylation* longipes. **Plant Stems: Physiology and Functional Morphology**, v.109, p.313-321. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2000.100313.x, 2000.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: SPI/Embrapa-CNPq, v.1, p.509, 1998.

THORPE, T.; STASOLLA, C.; YEUNG, E. C.; KLERK, G. J.; ROBERTS, A.; GEORGE, E. F. The Components Plant Propagation by Tissue Culture. **Plant Tissue Media II. In: Netherlands, Springer**. v.1, p.115-174, 2008.

TRIVEDI, A.; SENGAR, R.S. Effect of various light-emitting diodes on growth and photosynthetic pigments of banana (*Musa acuminata*) cv. Grandenaine *in vitro* plantlets. **International Journal of Chemical Studies**, v.5, p.1819-1821. DOI: 10.5958/2322-0996.2017.00008.4, 2017.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; FREITAS, G. F. Otimização de um protocolo para micropropagação de oliveira Ascolano 315. **Ceres**, v.57, p.530-534. DOI: 10.1590/S0034-737X2010000400015, 2010.

WANG, P., J.; CHARLES, A. Micropropagation Through Meristem Culture. In: Bajaj YPS (eds) **High-Tech and Micropropagation I. Biotechnology in Agriculture and Forestry**, v.17, p.32-52. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-76415-8_3, 1991.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total Carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution.

Journal of Plant Physiology, v.144, p.307-313. DOI:10.1016/S0176 1617(11)81192-2, 1994.

XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.105, p.149-158. DOI: 10.1007/s11240-010-9863-9, 2011.

ZAHARA, M.; DATTA, A.; BOONKORCAEW, P.; Effects of sucrose, carrot juice and culture media on growth and net CO₂ exchange rate in *Phalaenopsis hybrid* "Pink". **Scientia Horticulturae**, v.205, p.17-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.04.011>, 2016.

ZHANG, W. Mechanisms underlying the regulation of root formation in *Malus hupehensis* stem cuttings by using exogenous hormones. **Journal Plant Growth Regulation**, v.35, p.1-12. DOI: DOI: 10.1007/s00344-016-9628-8, 2016.

ANEXOS

ANEXO 1 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE NÚMERO DE BROTAÇÕES POR EXPLANTES (NBE) E MÉDIA DO NÚMERO DE MAIOR RAIZ (CM) DE CANA-DE-AÇÚCAR DA VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED.

| FV | GL | NBE | NR |
|-------------|----|---------|-------|
| Tratamentos | 5 | 10,26** | 0,01 |
| Resíduos | 22 | 0,81 | 0,05 |
| Total | 27 | | |
| Média | | 30,72 | 0,31 |
| CV(%) | | 29,29 | 72,24 |

ANEXO 2 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICO ANALISADOS DE CANA-DE-AÇÚCAR DA VARIEDADE RB855156 CULTIVADAS *IN VITRO* EM TIPOS DE LED.

| FV | Clorofila a | | Clorofila b | | Clorofila Total | | Carotenoides | |
|-------------|-------------|-------|-------------|--------|-----------------|--------|--------------|----------|
| | GL | QM | GL | QM | GL | QM | GL | QM |
| Tratamentos | 4 | 0,07 | 4 | 0,0002 | 4 | 0,11** | 4 | 0,0063** |
| Resíduos | 10 | 0,03 | 10 | 0,0004 | 9 | 0,01 | 9 | 0,0005 |
| Total | 14 | | 14 | | 13 | | 13 | |
| Média | | 0,75 | | 0,08 | | 0,87 | | 0,22 |
| CV(%) | | 23.89 | | 23.85 | | 12.01 | | 10.72 |

ANEXO 4 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE COMPRIMENTO DE MAIOR RAIZ (CMR) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | CMR (p-valor) |
|-------------------------------|------|---------------------|
| | | |
| Diodos Emissores de Luz (LED) | 4 | 9,54 * |
| Concentrações (C) | 4 | 3,36 * |
| Interação (L*C) | 16 | 0,093 ^{ns} |
| CV % | 60,3 | |

ANEXO 5- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PESO SECO DE RAIZ (PSR) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | Número médio de PSR (p-valor) |
|-------------------------------|-------|-------------------------------|
| | | |
| Diodos Emissores de Luz (LED) | 4 | 5,24 * |
| Concentrações (C) | 4 | 1,04 ^{ns} |
| Interação (L*C) | 16 | 1,48 ^{ns} |
| CV % | 121,7 | |

ANEXO 6- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE BROTAÇÃO (cm) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | Número médio de NBE (p-valor) |
|-------------------------------|-------|-------------------------------|
| | | |
| Diodos Emissores de Luz (LED) | 4 | 20,31 * |
| Concentrações (C) | 4 | 0,39 ^{ns} |
| Interação (L*C) | 16 | 1,04 ^{ns} |
| CV % | 31,14 | |

ANEXO 7 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE COMPRIMENTO DE PARTE AÉREA (cm) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | Número médio de CPA(p-valor) |
|-------------------------------|-------|------------------------------|
| | | |
| Diodos Emissores de Luz (LED) | 4 | 7,19* |
| Concentrações (C) | 4 | ^{ns} 4,65 |
| Interação (L*C) | 16 | ^{ns} 2,20 |
| CV % | 23,29 | |

ANEXO 8 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PESO FRESCO DE PARTE AÉREA (g) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | PFFA (p-valor) |
|-------------------------------|------|--------------------|
| | | |
| Diodos Emissores de Luz (LED) | 4 | 25,00* |
| Concentrações (C) | 4 | 3,80 ^{ns} |
| Interação (L*C) | 16 | 2,68 * |
| CV % | 38,2 | |

ANEXO 9- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PESO SECO DE PARTE AÉREA (g) DE CANA-DE-AÇÚCAR VARIEDADE RB855156 SOB EFEITO DE DIFERENTES DIODOS EMISSORES DE LUZ (LED) E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIB. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | PSPA (p-valor) |
|-------------------------------|------|---------------------|
| | | |
| Diodos Emissores de Luz (LED) | 4 | 22,07* |
| Concentrações (C) | 4 | 1,83 ^{ns} |
| Interação (L*C) | 16 | 1,033 ^{ns} |
| CV % | 30,7 | |