

A influência da luz na aclimatação do castanheiro

José Carlos Gonçalves¹
Sofia Gaspar Mendonça²



Resumo

Este estudo teve como objectivo verificar a influência da intensidade luminosa durante a aclimatização de rebentos de castanheiro (*Castanea sativa* x *Castanea crenata*) regenerados *in vitro*, tendo sido submetidos a dois tratamentos de luz, de 250 $\text{m mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 150 $\text{m mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Para a análise dos tratamentos foram quantificados parâmetros de análise de crescimento. Verificou-se que as plantas que foram sujeitas a uma irradiância de 250 $\text{m mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ apresentaram maior crescimento e consequentemente maior quantidade de biomassa, desenvolvendo assim sistemas radiculares e aéreos com maior potencial, que os desenvolvidos nas plantas sujeitas a uma irradiância de 150 $\text{m mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Palavras chave: Micropropagação, Aclimatização, Luz, Castanheiro;

1. Introdução

A aclimatização corresponde a uma fase da micropropagação onde se dá a adaptação climática de um organismo, neste caso de uma planta, que foi transferida para condições ambientais diferentes e cujo processo decorre sobre o controlo total ou parcial da "mão humana" distinguindo-o, assim, do termo aclimatização, que se processa em condições naturais, isto é, sem intervenção do homem (Conover e Poole, 1984).

Há assim, na micropropagação, necessidade de uma fase de transição gradual para as condições de crescimento natural, onde as plantas se reajustam e adquirem processos fisiológicos que lhes permitem a passagem das condições heterotróficas para as condições autotróficas.

Poder-se-á atribuir o sucesso obtido nesta fase, não só ao bom estado fisiológico das plantas regeneradas *in vitro*, como também à funcionalidade do sistema radicular e ao tipo de substrato utilizado, e de resto às condições ambientais, particularmente à humidade e à temperatura.

A referida fase, juntamente com a fase de transplante, são consideradas as fases mais críticas em todo este processo. Vieitez *et al.* (1986) referem valores de sobrevivência próximos de 35% e Mullins (1987) acrescenta que para rebentos enraizados *in vitro*, se registaram elevadas taxas de mortalidade

, no entanto, o enraizamento *in vivo* foi dotado de melhores resultados. Gonçalves *et al.* (1994), referem taxas de sobrevivência na ordem dos 50% para rebentos enraizados *in vitro* e de 100% para rebentos realizados *ex vitro* (Gonçalves *et al.*, 1998).

A fase de aclimatização é crítica no processo global de micropropagação. Por isso, deverá desenvolver-se de uma forma gradual e com diversas precauções, tal como atrás se referiu. Factores como o controlo de humidade (Brainerd e Fuchigami, 1981; Wardle *et al.*, 1983; Capellades, 1989), utilização de anti-transpirantes (Sutter e Hutzel, 1984; Diettrich *et al.*, 1992), luz, englobando neste termo a densidade de fluxo fotónico, distribuição espectral, fotoperíodo e direcção de incidência (Economu e Read, 1987; Matysiak e Nowak, 1994; Vince-Prue, 1994) e concentração de dióxido de carbono (Desjardins *et al.* 1987, Desjardins *et al.* 1990, Desjardins *et al.* 1995), são alguns dos factores determinantes no desenrolar do processo de aclimatização e, como tal, objecto de estudo.

Assim, a capacidade de aclimatização depende, não só da espécie mas também das características morfológicas, anatómicas e fisiológicas das plantas regeneradas *in vitro*, como também das condições ambientais de stress a que as microplantas ficam sujeitas nesta última fase da micropropagação (Kozai, 1992; Chaves, 1994).

2. Material e métodos

Foram utilizadas microplantas obtidas por enraizamento *ex vitro*, onde o crescimento radicular se desenvolveu num substrato de turfa e perlite (Gonçalves *et al.*, 1998). Foram escolhidas plantas aparentemente saudáveis, no que respeita ao desenvolvimento radicular e aéreo, tendo sido colocadas individualmente em vasos de plástico com um substrato mistura de turfa e perlite (1:2, v:v). Após o envasamento, as plantas foram fertilizadas semanalmente com uma solução nutritiva de ½ MS (1/4 No3).

Colocaram-se os vasos em estufins de aclimatização com controlo de luz, humidade e temperatura. A iluminação foi fornecida por lâmpadas fluorescentes colocadas no topo do estufim, com uma intensidade de 250 m mol m⁻²s⁻¹ e de 150 m mol m⁻²s⁻¹, com fotoperíodo de 16 horas, que foram designados respectivamente por tratamentos Luz1 e Luz2.

A humidade relativa (HR), controlada através de uma sonda higrométrica com controlo digital, foi produzida por um sistema de nevoeiro, consistindo em gotículas de água cujas dimensões, permitem a criação de ambientes com humidade elevada, sem que haja significativa condensação. Os valores da HR foram sendo reduzidos gradualmente desde os 98% no dia zero da instalação até aos 50%, 4 semanas após o início do ensaio.

Foi definida uma temperatura de 25°C, tendo esta variado ± 2°C.

Para quantificar o desenvolvimento referido, foram marcadas as folhas persistentes (fp) que se desenvolveram na fase de multiplicação e se mantiveram na fase de enraizamento, para as distinguir das folhas que se desenvolveram na fase de aclimatização designadas por folhas novas (fn).

Para quantificar a influência da luz na biomassa das plantas foram analisadas as biomassa total (Bt) e biomassa foliar (Bf), o peso seco do caule (Psc) e a biomassa radicular (Br).

Posteriormente, os parâmetros de crescimento foram analisados por planta após as quatro semanas de aclimatização, e ainda, separadamente, em folhas persistentes (fp) e folhas novas (fn).

Registaram-se os pesos frescos (Pf) e secos (Ps) das folhas, caules e das raízes.

A quantidade de biomassa das folhas, dos caules e das raízes acumulada durante a aclimatização, foi quantificada por amostragem destrutiva das plantas, numa balança analítica digital com precisão de 0,0001 mg, determinando o Pf e posteriormente o Ps das diferentes partes das plantas. A secagem do material vegetal para a obtenção dos pesos secos, foi efectuada numa estufa com ventilação forçada de ar a 80°C, durante um mínimo de 48 horas.

Os dados de seguida apresentados, correspondem aos parâmetros de crescimento analisados, no final das quatro semanas de aclimatização, em que dez plantas foram submetidas a uma irradiância de 250 m mol m⁻²s⁻¹ (Luz1) e dez a uma irradiância de 150 m mol m⁻²s⁻¹ (Luz2).

3. Resultados e discussão

Na Tabela 1 estão representados os valores médios (x), desvio padrão (s) e coeficiente de variação (s/x) para os diferentes parâmetros estudados para a Luz1 e Luz2. Estão também representados os resultados do teste de Scheffe a 95% de confiança para diferença entre os dois tratamentos para cada parâmetro estudado.

Tab. 1 - Influência da intensidade luminosa na Bt, Bf, Psfp, Psfn, Psc, Psr.

		Luz1	Luz2	Diferença entre as médias
Bt	\bar{x}	149,94	134,5	Signif. inf.
	s	24,28	12,25	
	s/x	0,16	0,09	
Bf	\bar{x}	22,04	41,32	Signif. inf.
	s	22,24	12,76	
	s/x	0,44	0,27	
Psfp	\bar{x}	22,18	12,62	N. S. Signif. inf.
	s	12,64	12,22	
	s/x	0,57	0,97	
Psfn	\bar{x}	42,25	22,74	Signif. inf.
	s	22,44	12,25	
	s/x	0,53	0,54	
Psc	\bar{x}	22,17	11,22	N. S. Signif. inf.
	s	12,22	24,31	
	s/x	0,54	0,97	
Psr	\bar{x}	24,28	12,24	Signif. inf.
	s	12,22	7,18	
	s/x	0,50	0,58	

Pela análise da Tabela 1 podemos observar que existe uma grande variabilidade dos parâmetros estudados dada por valores de desvio padrão muito elevado ao qual correspondem valores de coeficiente de variação entre 27,8% e 80,7%. Para todos os parâmetros estudados observam-se valores médios superiores para a aclimatização das plantas submetidas a intensidades luminosas mais elevadas. No entanto, estas diferenças apenas não são significativas para o Psfp e Psc.

Verifica-se que a Bf para o tratamento Luz1 apresenta valores médios superiores, mas também, desvio-padrão e erro-padrão superiores. Assim, podemos concluir que o crescimento é superior para o tratamento com Luz1. Os valores obtidos na Bf resultam da soma dos totais dos Psfp e dos Psfn. Assim, também a Bf apresenta diferenças significativas relativamente às duas intensidades luminosas a que foram sujeitas as plantas, sendo o tratamento de Luz1 aquele que apresenta maior quantidade de biomassa, relativamente ao tratamento de Luz2.

Nas Figura 1 e Figura 2 está representada a variação da Bf em função do Psn e Psfp para os dois tratamentos de Luz1 e Luz2.

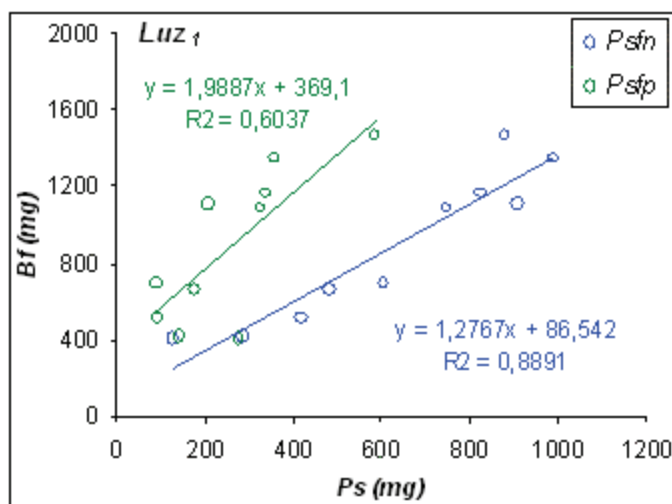


Fig. 1 - A influência do Psfn e do Psfp (mg) na Bf (mg), para o tratamento de Luz1.

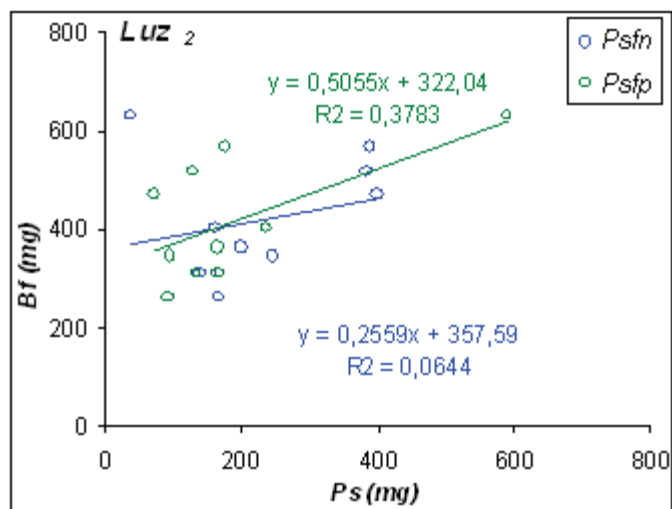


Fig. 2 - A influência do Psfn e do Psfp (mg) na Bf (mg), para o tratamento de Luz2.

Verifica-se que para o tratamento Luz1, para uma igual quantidade de Bf existe um maior peso de folhas que se desenvolveram antes da fase de aclimatização (Psfp), no entanto, o Psfr está mais fortemente relacionado com a Bf. Ao contrário, para o tratamento de Luz2, não existe correlação significativa entre estes parâmetros.

Da mesma forma, também é possível verificar como a quantidade de Psfp e Psfn varia para os dois tratamentos estudados, apresentando o Psfp valores médios mais baixos para as duas intensidades luminosas, relativamente ao Psfn. A variabilidade observada para Psfp é superior à observada para o Psfn.

Verificam-se, assim, maiores quantidades de biomassa nas fr. No entanto, enquanto que o tratamento realizado para o Psfp não apresenta diferenças significativas nos dois tratamentos realizados, a diferença que se verifica para o Psfr já é significativa.

De seguida estudou-se de que forma a quantidade de biomassa das folhas novas é influenciada, para o tratamento Luz1 e Luz2 pela quantidade de Br (Fig. 3).

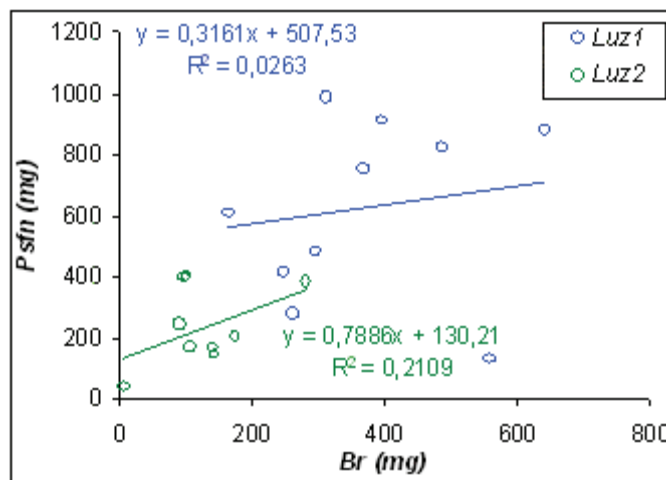


Fig. 3 - A influência da Br (mg) no Psfn (mg) para os tratamentos de Luz1 e Luz2.

Na fig. 4 está representada a variação do Psfn em função do Psfp para os dois tratamentos.

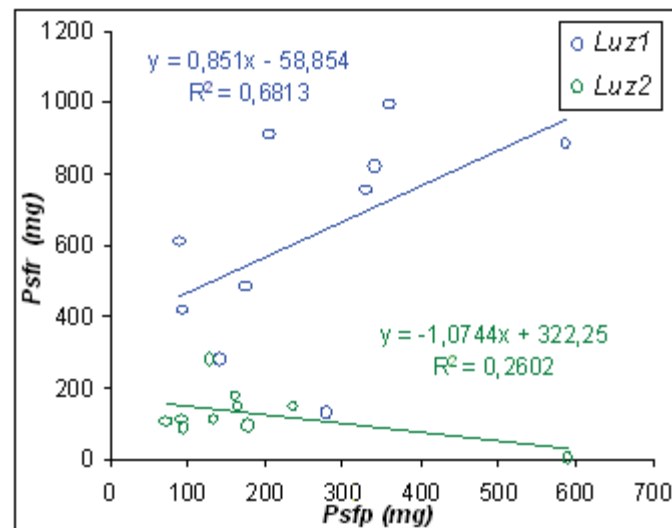


Fig. 4 - A influência do Psfp (mg) no Psfn (mg) para os tratamentos de Luz1 e Luz2.

O Psfn apresenta grande variação entre tratamentos com maiores intensidades, devido à influência que o Psfp tem sobre as primeiras no mesmo tratamento (Fig. 4). Essa influência verifica-se uma vez que da análise realizada resultam diferenças significativas no Psfn entre os dois tratamentos.

Verificamos que para a Luz1, o maior crescimento é devido aos dois tipos de folhas (a um aumento do Psfp corresponde um aumento do Psfn), embora a correlação existente entre o Psfp com o Psfn em Luz2 seja mais baixa.

Observamos que existem também diferenças na distribuição do Psc para os dois tipos de luz, verificando-se para a Luz1 uma maior distribuição com valores mais elevados, do que para Luz2, não existindo no entanto diferenças significativas entre os dois tratamentos.

Efectuou-se a determinação da percentagem de variação, para cada parâmetro estudado, devido ao tipo de luz utilizado.

No entanto, para além do principal factor responsável por tais variações, a luz, também o próprio material influencia o desenvolvimento (erro padrão). As plantas ao serem micropropagadas, carregam no seu material genético informação que vai determinar o seu crescimento.

O resultado da análise de componentes de variação está resumida na Figura 6.

De todos os parâmetros analisados (Bt, Bf, Psfp, Psfn, Psc, Br) verifica-se que onde a variação do tipo de luz utilizada na aclimatização tem maior influência é no Psfp, este factor é responsável por 98,5% da variação encontrada.

Ao contrário, para o Psc a variação encontrada é relativamente baixa, sendo responsável apenas por 23,7%. A variabilidade do próprio material assume para estes parâmetros valores superiores.

Fig. 5 - % de variação dos diferentes parâmetros analisados, relativamente à luz e ao material genético.

4. Considerações finais

Na micropropagação, cinco fases são responsáveis pelo sucesso dessas novas plantas, sendo que cada uma delas vai influenciar o desenvolvimento dos clones, e viabilizar o sucesso das fases seguintes. Devido às condições anatómicas e fisiológicas das plantas que se desenvolveram na fase anterior sob condições de elevadas HR, nos primeiros dias após o transplante, a sobrevivência torna-se algo de complicado, bem como, o desenvolvimento dos próprios órgãos.

Embora as correlações entre a o Psfn e a Br não sejam elevadas, concluímos que as plantas sujeitas a intensidades luminosas mais elevadas apresentam um melhor desenvolvimento foliar.

Referências bibliográficas

Brainerd, K.E. e Fuchigami, L.H., 1981. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 106(4): 515-518.

- Capellades, M., 1989. *Histological and ecophysiological study at the changes occurring during acclimatization of in vitro cultured roses*. PhD Thesis. State Univ. Gent, Belgium. 97 pp.
- Chaves, M.M., 1994. Environmental constraints to photosynthesis in ex vitro plants. In P.J. Lumdsen, J.R. Nicholas e W.J. Davies (eds.), *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*, pp. 1-18. Kluwer Academic Pub., Dordrecht.
- Conover, C.A. e Poole, R.T., 1984. Acclimatization of indoor foliage plants. *Hortic. Ver.*, 6: 120-154.
- Desjardins, Y., Gosselin, A e Lamarre, M., 1990. Growth of transplants and in vitro - cultured clones of Asparagus in response to Co2 enrichment and supplemental lighting. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 115: 364-368.
- Desjardins, Y., Gosselin, A e Yelle, S., 1987. Acclimatization of ex vitro strawberry plantlets in Co2 - enriched environments and supplementary lighting. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 112: 846-851.
- Desjardins, Y., Hdider, C. e de RieK, J., 1995. Carbon nutrition in vitro - regulation and manipulation of carbon assimilation in micropropagated systems. In Y. Aitken-Christie, T. Kozai, e M.L. Smith (eds.), *Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture*, pp. 441-471. Kluwer Academic Pub., Dordrecht.
- Dietrich, B., Mertinat, H. e Luckner, M., 1992. Reduction of water loss during ex vitro acclimatization of micropropagated Digitalis lanata clone plants. *Biochemie und Physiol. Pflanzen.*, 188: 23-31.
- Economu, A.S. e Read, P.E., 1987. Light treatments of improve efficiency of in vitro propagation systems. *HortScience*, 22: 751-754.
- Gonçalves, J.C., Amâncio, S. e Pereira, J.S., 1994. Rooting and acclimatization of chestnut by in vitro propagation. In P. J. Lumdsen, J. R. Nicholas & W. J. Davies (eds.), *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*, pp. 303-308. Kluwer Academic Pub., Dordrecht.
- Gonçalves, J.C.; Diogo, G. e Amâncio, S., 1998. In vitro propagation of chestnut (Castanea sativa): Effects of rooting treatments on plant survival, peroxidase activity and anatomical changes during adventitious root formation. *Scientia Horticulturae*. 72: 265-275.
- Kozai, T., 1992. Aacclimatization of micropropagated plants. In Y.P.S. Bojay (ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry - High-Tech and Micropropagation II, Vol 18*, pp. 127-141. Springer-Verlag, Berlin.
- Matysiak, B. e Nowak, J., 1994. Carbon dioxide and light effects on photosynthesis, transpiration and ex vitro growth of Hamalomena 'Esmeralda Gem' plantlets. *Scientia Hort.*, 57: 353-358.
- Mullins, K.V., 1987. Micropropagation of chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Acta Hort.*, 212: 525-530.
- Sutter, E.G. e Hutzell, M., 1984. Use of humidity tents and antitranspirantes in the acclimatization of tissue-cultured plants to the greenhouse. *Scientia Hort.*, 23: 303-312.
- Vieitez, A.M. e Vieitez, M.L. e Vieitez, E., 1986. Chestnut (*Castanea* spp). In Y. P. S. Bajaj (ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 1*, pp. 393-414. Springer-Verlag, Berlin.
- Vince-Prue, D., 1994. Photomorphogenesis and plant development. In P.J. Lumdsen, J.R. Nicholas e W.J. Davies (eds.), *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*, pp. 19-30. Kluwer Academic Pub., Dordrecht.
- Wardle, K., E. e Short, K.C., 1983. In vitro acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. *J. Amer. Hort. Sci.*, 108: 386-389.

- 1 Professor Coordenador da ESACB. director@esa.ipcb.pt
2 Bacharel em Engenharia Florestal. sofiagasparmendonca@mail.pt