Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Conservação *in vitro* de morangueiros sob diferentes espectros de luz

Jéssica Casarotto

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2019

Jéssica Casarotto
Licenciada em Ciências Biológicas

Conservação *in vitro* de morangueiros sob diferentes espectros de luz

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **MARCEL BELLATO SPÓSITO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Casarotto, Jéssica

Conservação *in vitro* de morangueiros sob diferentes espectros de luz / Jéssica Casarotto. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

62 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Fragaria x ananassa* 2. Micropropagação 3.LEDs 4. Plântulas I. Título

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pela minha vida, e por eu ter chego até aqui.

Ao prof. Dr. Marcel Bellato Spósito pela orientação, confiança, conselhos e paciência durante todo esse tempo.

Ao prof Dr. Paulo Hercílio Viegas Rodrigues pela coorientação, por ter cedido o laboratório e o espaço para a implantação do experimento e também a área na casa de vegetação para a segunda parte do experimento.

Ao Cris, grande amigo de laboratório, por toda a ajuda, paciência, conselhos, risadas, e pelas “dicas” ao longo desses anos intensos.

Ao Dr. Enio e a Martha por sempre me ajudar e ensinar desde o primeiro momento que iniciei minha jornada na ESALQ.

Ao Carlos, grande amigo que fiz na ESALQ, pela ajuda, ensinamentos e pelo apoio às mudanças que fiz no meio do caminho.

A Solizete por sempre ter a paciência de me ouvir e tirar minhas dúvidas referentes aos processos burocráticos da pós graduação.

Aos meus pais, Antonio e Silvana, por todo amor, compreensão e por sempre me apoiarem, em cada decisão da minha vida. À minha irmã, Giovana, por estar presente mesmo distante.

Aos meus colegas da pós graduação, que sempre me apoiaram, me escutaram e me ajudaram e todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO **5**

ABSTRACT **6**

1. INTRODUÇÃO **7**

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **9**

2.1. A cultura do morangueiro 9

2.2. Condições ambientais no ciclo da cultura 10

2.3. Fotossíntese e luz 12

2.3.1. Respostas das plantas aos sinais de luz 12

2.3.1.1. Luz vermelha 12

2.3.1.2. Luz azul 13

2.3.2. Radiação fotossinteticamente ativa 13

2.4.Métodos de propagação 14

2.4.1. Propagação vegetativa 14

2.4.2. Micropropagação 15

2.5. Conservação *in vitro* 17

2.6. Aclimatização 19

3. MATERIAL E MÉTODOS **21**

4. RESULTADOS **25**

5. DISCUSSÃO **41**

6. CONCLUSÃO **47**

REFERÊNCIAS **49**

ANEXOS **59**

RESUMO

Conservação *in vitro* de morangueiros sob diferentes espectros de luz

Os diodos emissores de luz (LEDs) são utilizados em vários setores da agricultura, principalmente no cultivo *in vitro*, por ser uma alternativa de fonte de luz mais eficiente. Além de proporcionar uma significativa economia de energia elétrica, pode também auxiliar no desenvolvimento das plantas. Algumas técnicas de cultivo *in vitro* tem a finalidade de conservar os recursos fitogenéticos, que são fundamentais para viabilizar o estabelecimento de bancos de germoplasma e permitir a produção comercial de plantas micropropagadas. No Brasil, essa técnica já é usada para a propagação de plantas, no entanto ainda são poucos experimentos com a presença de LEDs. O objetivo do estudo foi avaliar o desenvolvimento de plântulas de morangueiro da cultivar Camarosa conservadas *in vitro*, sob a ação de diferentes espectros de luz. Os explantes de morangueiro foram mantidos em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura semi-sólido MS, acrescido de 30 g de sacarose L^{-1}; 1,8 g L^{-1} de Phytagel® e 0,1 mg L^{-1} de IBA (ácido idolbutírico), permanecendo *in vitro* por 28, 56, 84, 112 e 140 dias sob os tratamentos de LEDs de cor branca, mista (70% vermelha + 30% azul), vermelha e azul, sem ocorrência de subcultivos. Em cada intervalo de tempo, foram avaliadas a altura, peso fresco, número e comprimento das raízes, número de folhas, diâmetro do caule, teores de clorofila a e b. As plântulas obtidas foram aclimatizadas por 21 dias e avaliadas a taxa de sobrevivência das plantas, expressas em porcentagem, o número de folhas, o diâmetro do caule e a altura das plantas. O uso de LEDs de cor vermelha e mista contribuíram para o desenvolvimento das plântulas, já a luz azul reduziu o desenvolvimento das plântulas. Em relação aos pigmentos fotossintéticos, a utilização de LEDs não teve interferência em nenhum tratamento sob as plântulas. Na aclimatização, as plântulas sob efeitos das luzes vermelha e mista, tiveram um melhor resultado de sobrevivência em até três meses de conservação sem subcultivos.

Palavras-chave: *Fragaria x ananassa*; Micropropagação; LEDs; Plântulas

ABSTRACT

In vitro conservation of strawberries under different light spectra

Light emitting diodes (LEDs) are used in many agriculture sectors, especially *in vitro* cultivation, because it is a more efficient light source alternative. In addition to providing significant energy savings, it can also help in the development of plants. Some techniques of *in vitro* cultivation have the purpose of conserving plant genetic resources, which are fundamental to enable the establishment of germplasm banks and allow the commercial production of micropropagated plants. In Brazil, this technique is already used for the propagation of plants, however there are still few experiments with the presence of LEDs. The objective of the study was to evaluate the development of strawberry cv. Camarosa conserved *in vitro*, under the effect of different light spectra. The strawberry explants were kept in test tubes containing 10 ml of MS semi-solid culture medium, plus 30 g of sucrose L-1; 1.8 g L-1 of Phytagel® and 0.1 mg L-1 of IBA (idolbutyric acid), remaining in vitro for 28, 56, 84, 112 and 140 days under the treatments of mixed white LEDs (70% red + 30% blue), red and blue, without subculture interference. At each interval, height, fresh weight, number and length of roots, number of leaves, stem diameter, chlorophyll a and b contents were evaluated. The seedlings obtained were acclimatized for 21 days and evaluated the survival rate of the plants, expressed as percentage, number of leaves, stem diameter and height of plants. The use of red and mixed color LEDs contributed to the development of the seedlings, while the blue light reduced the development of the seedlings. In relation to the photosynthetic pigments, the use of LEDs did not interfere in any treatment under the seedlings. In acclimatization, the seedlings under the effects of red and mixed lights, had a better survival result in up to three months of conservation without subcultures.

Keywords: *Fragaria x ananassa;* Micropropagation; LEDs; Seedlings

1. INTRODUÇÃO

O morangueiro (*Fragaria* x *ananassa* Duch) é uma planta frutífera pertencente à Família Roseaceae, e caracteriza-se por ter hábito rasteiro (GROPPO et al., 1997). O Brasil é o segundo maior produtor de morangos da América Latina, com uma área plantada de 4 mil hectares e produção de 105 mil toneladas por ano (REISSER et al., 2015). Os principais estados brasileiros produtores de morango são Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Espírito Santo, Paraná e Santa Catarina (ANTUNES et al., 2014).

O cultivo do morango no Brasil é uma atividade especializada que exige conhecimentos técnicos e utilização de métodos modernos de manejo da cultura. As mudas representam 25% do custo total de implantação da cultura e devem ser adquiridas em viveiros certificados para garantir a qualidade genética e fitossanitária (ANTUNES et al., 2014). O cultivo *in vitro* é empregado na produção de plantas matrizes de qualidade que atendem a demanda dos produtores de morango. O material a ser propagado é conservado *in vitro* utilizando-se a técnica da cultura de tecidos em condições controladas de temperatura, fotoperíodo e em meio de cultivo que favoreça o crescimento lento dos propágulos. A manutenção *in vitro* do material a ser propagado é garantida pela adoção de um conjunto de medidas técnicas e operacionais, a fim de evitar a deterioração das plantas por meio de subcultivos, ou seja, transferências periódicas dos propágulos vegetais para frascos contendo meio de cultura novo, em condições assépticas. A conservação *in vitro* é uma metodologia que permite a conservação do germoplasma vegetal (EMBRAPA, 2010).

O crescimento lento (ou mínimo) *in vitro*, refere-se ao uso de técnicas capazes de reduzir o desenvolvimento da plântula a um mínimo possível, com a diminuição do metabolismo do tecido vegetal e assim aumentar o período de seu armazenamento, sem alterar o padrão genético e a qualidade do material vegetal micropropagado (KAMINSKA et al., 2016). Na redução efetiva do metabolismo das plantas *in vitro*, as condições de cultivo, tais como temperatura, período de luz e intensidade da luz, podem ser alteradas, assim como os componentes do meio de cultivo (nutrientes orgânicos e inorgânicos, reguladores osmóticos e de crescimento), durante o período de incubação (TAKUR et al., 2015; CARVALHO et al., 2014; KAUR et al., 2012).

O uso de fontes de luz com diferentes comprimentos de onda a partir de diodos emissores de luz (LED) tem sido amplamente utilizado na propagação *in vitro* em diferentes culturas, como em cana-de-açúcar, bananeira e orquídeas, com o objetivo de aumentar a produção e melhorar a qualidade das plântulas (MALUTA et al., 2013; MARTINEZ et al., 2016; HUNG et al., 2016). Fontes de luz com comprimentos de ondas diferentes podem causar mudanças significativas no desenvolvimento *in vitro* de plântulas, relacionadas às disposições dos tilacóides nos cloroplastos, que podem modificar a emissão e comprimento de raízes, número de estômatos nas folhas e no teor de clorofila (MALUTA et al., 2013; VIEIRA et al., 2015; MACEDO et al., 2011). Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o desenvolvimento e a conservação das plântulas de morangueiro conservadas *in vitro*, sob a ação de diferentes espectros de luz.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A cultura do morangueiro

O morangueiro pertencente à família Rosaceae, é uma planta perene, de hábito rasteiro, folhas ovaladas e flores com pétalas brancas. O morangueiro é uma planta típica de clima temperado, sensível à variação fotoperiódica, sendo as altas temperaturas o principal fator limitante da cultura. Quando as condições climáticas são adequadas, a planta emite estolões com entrenós longos, que facilmente enraízam dando origem a novas plantas (MIRANDA e FERNANDES, 2001). O morangueiro (*Fragaria* x *ananassa* Duch), utilizado comercialmente, originou-se na França, no século XVIII, a partir de um provável cruzamento envolvendo duas espécies nativas da América, o morango silvestre ou norte americano, *Fragaria virginiana* (L.) Duch., com morango originário do Chile, *Fragaria chiloensis* Duch. (GRAHAM, 2005). Durante muito tempo, o morangueiro foi cultivado somente como ornamental nos jardins europeus e, atualmente, é cultivado no mundo inteiro para consumo do morango fresco ou processado (SILVA, et al., 2007).

O morangueiro é uma planta anual, e se reproduz assexuadamente a partir dos estolões formados na axila das folhas trifoliadas da planta-mãe. Nos estolões são formadas gemas meristemáticas ou nós, que em contato com um substrato formam as raízes (CAMARGO et al., 1993). O caule do morangueiro é um rizoma curto, onde são formadas as folhas trifoliadas. Na axila das folhas podem ser formadas as rosetas de folhas e os estolões (CALVETE et al., 2005). Os morangueiros podem formar flores perfeitas, com a presença de pistilos e estames, ou imperfeitas, podendo ser estaminadas ou pistiladas. Devido a essas possibilidades de flores, há a necessidade de polinização cruzada, que ocorre basicamente por insetos. A parte comestível é formada por um receptáculo suculento e carnoso, formando um pseudofruto, e o fruto verdadeiro são os aquênios, que são as sementes presas ao receptáculo (FILGUEIRA, 2003). O sistema radicular é formado por raízes longas, fasciculadas, que se originam na coroa e podem ser divididas em raízes primárias e raízes secundárias (FILGUEIRA, 2000). As raízes primárias são grandes, e tem como função a reserva de carboidratos e a absorção de água e nutrientes. As raízes secundárias são dispostas

em camadas superpostas, ficando as camadas mais novas acima das mais velhas e têm função de absorção de água e nutrientes (PIRES, 2000).

Devido a grande influência do clima na cultura, as cultivares de morango podem ser classificadas como de “dia curto” (DC) ou de “dia neutro” (DN). As cultivares DC necessitam de fotoperíodo entre 8 e 11 horas e temperaturas noturnas entre 8°C e 15°C, para que ocorra a indução floral (GALLETTA e BRINGHURST, 1990). A produção se inicia 60 dias após o plantio e estende-se até o final do ano. Entre as cultivares DC, se destacam a ‘Camino Real’ e a ‘Camarosa’. As cultivares DN são relativamente insensíveis ao comprimento do dia, portanto, a diferenciação das gemas floríferas ocorre independentemente do fotoperíodo desde que a temperatura esteja abaixo de 28 ºC (GUTTRIDGE, 1985; MANAKASEM e GOODWIN, 2001). As cultivares DN são plantadas entre maio e outubro e iniciam a produção entre 90 e 120 dias após o plantio. Essas cultivares são normalmente plantadas em regiões acima de 400 metros de altitude, onde as temperaturas noturnas são mais amenas. As cultivares DN são as mais plantadas no sistema de plantio em bancadas com substrato. As principais cultivares DN são a ‘Albion’ e a ‘San Andréas’.

A cultivar Camarosa (DC), originária de melhoramento na Universidade da Califórnia, nos EUA, em 1992, vem sendo cultivada há mais tempo no Brasil. Essa cultivar tem como características ser uma planta robusta, com folhas grandes e coloração verde escura, com maior vigor vegetativo, maior perfilhamento e produz frutos grandes de epiderme vermelha. Os frutos são firmes e saborosos, porém um pouco ácido, polpa de textura firme e de coloração interna vermelha brilhante, escura e uniforme, sendo destinados tanto para o mercado de fruta fresca como, para o processamento (EMBRAPA, 1993). O ciclo dessa cultivar é curto e possui alta capacidade de produção. A ‘Camarosa’ é suscetível à mancha de Mycosphaerella (*Mycosphaerella fragariae*), à antracnose (*Colletotrichum fragariae* e *C. acutatum*) e ao mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) (EMBRAPA, 1993).

2.2. Condições ambientais no ciclo da cultura

A época do plantio do morangueiro depende do clima de cada região. A época mais adequada para o plantio é no outono, obtendo-se a produção no inverno

e na primavera. No início do outono, a temperatura é mais elevada e os dias são mais longos, favorecendo assim o desenvolvimento vegetativo e, no inverno, com os dias mais curtos e a temperatura mais baixa, ocorre o estímulo ao florescimento e a frutificação (FILGUEIRA, 2000). A altitude influencia na temperatura e, portanto, também é utilizada para se propor a época de plantio. Em regiões com altitude inferior a 600 m o plantio pode ser realizado entre abril e maio e em regiões com altitude superior a 700 m o plantio pode ser realizado no final de fevereiro até março (RONQUE, 1998). No entanto, em regiões com temperaturas mais elevadas, o plantio deve ser feito mais tardiamente e em regiões de clima mais ameno o plantio pode ser realizado mais precocemente.

A temperatura, além de influenciar na época de plantio, também, é um dos principais fatores que limitam a cultura do morangueiro, podendo interferir no desenvolvimento vegetativo, na produção e na qualidade da fruta (SERÇE e HANCOCK, 2005). Em regiões localizadas próximas aos trópicos, as temperaturas elevadas fazem com que a planta permaneça na fase vegetativa, produzindo estolões ao longo do tempo (DARNEL et al., 2003), e os poucos frutos formados são ácidos, com baixa firmeza e pobres em sabor (SANTOS et al., 2003). Nessas regiões, não há indução floral reduzindo sobremaneira a produção de frutos (RESENDE et al., 1999). Para o estímulo da indução floral é necessário que ocorra baixas temperaturas diurnas durante a fase de propagação vegetativa (LIETEN, 2005). A redução da temperatura no outono, assim como de horas de luz faz com que haja a diminuição do crescimento da planta e com isso um aumento dos carboidratos armazenados nas folhas e raízes, principalmente na forma de amido, que em temperaturas baixas, fazem com que o ponto de congelamento do suco celular seja menor, resistindo às baixas temperaturas no inverno (TAYLOR, 2002).

O morangueiro necessita de temperaturas diurnas amenas e noturnas mais baixas. Na fase de formação de mudas, temperaturas médias durante entre 20°C e 26°C e com temperaturas noturnas abaixo de 15°C, podem interferir na quantidade de carboidratos de reserva das raízes, no tamanho das plantas e no desenvolvimento da planta (VERDIAL et al., 2009). Por outro lado, em regiões com temperaturas mais amenas, o crescimento vegetativo pode ser incrementado com o uso de *mulching*, que protege a terra e eleva a temperatura na camada de solo desde a superfície até 20 cm de profundidade. Outra maneira para a manutenção das condições climáticas favoráveis à cultura é o uso de cobertura plástica com

polietileno transparente sobre os morangueiros na produção comercial, que interfere em seu crescimento vegetativo. O uso de cultivo protegido em regiões com temperaturas extremas diminui os efeitos adversos das baixas temperaturas sobre a produção e desenvolvimento da planta (SINGH et al., 2012).

Na produção de mudas do morangueiro, a qualidade e intensidade de luz também são muito importantes. Em intensidades de luz entre 400 e 450 mmol m^{-2} s^{-1} de radiação fotossinteticamente ativa, a produção de frutos e flores pode ser beneficiada (KIRSCHBAUM, 1998).

2.3. Fotossíntese e luz

2.3.1. Respostas das plantas aos sinais de luz

As plantas respondem a estímulos luminosos por meio de fotorreceptores, como os fitocromos e os criptocromos. Os fitocromos são fotorreceptores responsáveis pela percepção da luz vermelha e estão envolvidos no fotoperiodismo das plantas, regulando o processo de florescimento. Os criptocromos são responsáveis pela percepção da luz azul e têm como função mediar respostas que incluem a suspensão do alongamento do hipocótilo, promoção da expansão do cotilédone, alongamento de pecíolos e produção de antocianinas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

2.3.1.1. Luz vermelha

O fitocromo além de ser especializado na absorção de luz vermelha, ele é o principal agente fotoreceptivo que regula o processo de florescimento. O fitocromo pode apresentar duas formas, uma com pico de absorção de luz vermelha com comprimento de onda de 600 nm e uma com pico de absorção de luz vermelha distante com comprimento de onda de 730 nm (TAIZ e ZEIGER, 2013). A forma com o pico de absorção de luz vermelha é chamado de fitocromo R (vermelho), e a forma com pico de absorção de luz vermelha distante é chamado de fitocromo F (vermelho distante). Quando há abundância de luz, durante o dia, em comprimentos de maior energia (600 nm), o fitocromo R é rapidamente convertido em fitocromo F. No período noturno, o fitocromo F, mais instável, converte-se espontaneamente em

fitocromo R. O fitocromo atua na inibição do alongamento de entrenó, aumento na taxa de acúmulo de clorofila, além de regular o processo de florescimento. Em plantas de dias curtos, o florescimento ocorre durante o período prolongado de escuro, onde o fitocromo F converte-se em fitocromo R, o que acarreta em respostas fisiológicas nas plantas, como a troca do período vegetativo para o reprodutivo (TAIZ e ZEIGER, 2013). Em plantas de morangueiro de “dias curtos”, como a cv. Camarosa, em um fotoperíodo menor do que 14 horas, ocorre a quebra da dominância do fitocromo vermelho e consequente indução floral (SANTOS et al,.2003).

2.3.1.2. Luz azul

Os criptocromos, as fototropinas e as zeaxantinas são flavoproteínas que conseguem absorver a luz azul (425-490 nm) e UV-A (320-400 nm) (TAIZ e ZEIGER, 2013). As fototropinas respondem ao movimento dos cloroplastos, expansão das folhas, abertura e fechamento dos estômatos, e as zeaxantinas, localizadas nas células guarda, podem ser convertidas em ácido abscísico e participar do fechamento estomático. As respostas ocorrem em intensidade de 10 µmol m^{-2} s^{-1}, pois em maiores intensidades a abertura do estômato é maior (TAIZ e ZEIGER, 2013). O fechamento dos estômatos reduz o processo fotossintético, que leva a diminuição da área foliar, do número de folhas formadas e da altura da planta (CORREIA e NOGUEIRA, 2004).

2.3.2. Radiação fotossinteticamente ativa

O comprimento de onda caracteriza-se pela distância entre dois picos sucessivos, ou seja, quanto menor a distância entre os picos, menor será o comprimento de onda e maior será a energia. A luz vermelha apresenta menor energia com comprimentos de onda de 700 nm. A luz azul apresenta menor comprimento de onda (400 nm) e, portanto, maior energia.

O comprimento de onda da luz se encontra no espectro visível, entre a radiação ultravioleta e infravermelha (NUNES, 2013; BARGHINI, 2008). Devido à sensibilidade dos cloroplastos à radiação, as plantas utilizam uma faixa específica a

qual recebe o nome de radiação fotossinteticamente ativa (RFA ou PAR) (ASSIS et al., 1998). Essa faixa correspondente aos comprimentos de onda entre 400 e 760 nm, que é sensível a visão humana (TAIZ e ZEIGER, 2013).

A qualidade da luz irradiada sobre as plantas tem ligação direta com suas respostas fisiológicas (OREN-SHAMIR, 2001). As clorofilas absorvem em maior quantidade radiação com comprimento de ondas entre 400 e 500nm e 600 e 730nm, que correspondem às porções azuis e vermelhas, respectivamente (TAIZ e ZEIGER, 2013). Diferenças morfológicas e fisiológicas em morangueiros foram observadas devido à qualidade espectral da luz absorvida pela planta, quando utilizadas diferentes fontes de luz fornecidas por LEDs (diodo emissor de luz) (SAMUOLIENE et al., 2010). Segundo os autores, a luz vermelha induziu o alongamento da haste floral e o crescimento das plantas e a produção de frutos menores.

O uso de ambiente protegido no cultivo de alimentos, com a manipulação dos espectros de radiação fotossinteticamente ativa vem sendo testados em diferentes culturas, com efeitos benéficos sobre o crescimento das plantas (CARRIJO et al., 2004; OUZOUNIS et al., 2015). Na produção de alface, o uso de LEDs com o aumento dos níveis de luz no espectro do azul afetou negativamente o crescimento das plantas, enquanto que o teor de clorofila aumentou (SON et al., 2013).

2.4. Métodos de propagação

2.4.1. Propagação vegetativa

A propagação vegetativa fundamenta-se na multiplicação assexuada de partes das plantas, como células, tecidos, órgãos ou propágulos, a fim de gerar indivíduos geneticamente idênticos à planta matriz (FERRARI et al., 2004; WENDLING et al., 2005). O material que é geneticamente derivado de apenas um indivíduo e propagado somente por meios vegetativos pode ser considerado um clone (HARTMANN et al., 2002).

No sistema de produção de mudas, tido como convencional, são necessários canteiros com 25 a 30 cm de altura e 0,80 a 1,20 m de largura e um espaçamento entre as plantas de 35x40cm. Após 30 a 40 dias do transplante das mudas, indica-se cobrir o solo com plástico preto, para proteger o morango do contato com a terra, e a colheita ocorre de 60 a 80 dias após o plantio de mudas

(VERDIAL, 2004). Mesmo sendo todas as características da planta-matriz transferidas para a nova planta, pode ocorrer modificações na morfologia da planta, flores e frutos devido a fatores ambientais.

Existem vários métodos vegetativos de propagação de plantas, como a estaquia, a enxertia, a micropropagação, entre outros. A escolha do método varia de acordo com o objetivo, a espécie envolvida, a época do ano, o tipo e a quantidade de material disponível, as condições ambientais, a disponibilidade de recursos físicos e financeiros (WENDLING et al., 2005).

2.4.2. Micropropagação

A micropropagação é uma técnica que proporciona grandes benefícios na propagação de plantas. A micropropagação é feita a partir de um explante (célula, tecido ou órgão de uma planta usada para iniciar um cultivo *in vitro*), o qual pode ser um fragmento de folha, raiz ou outro tecido vegetal, que responda as condições de indução em meio de cultura, com vistas à regeneração *in vitro*. Essa regeneração baseia-se na proliferação e organização das células vegetais em plantas completas (MANTELL et al., 1994; KERBAUY, 1997). A micropropagação é baseada no princípio de totipotência, teoria formulada por Schleinden e Schwann, 1828, a qual uma célula é capaz de dividir-se, diferenciar-se e formar uma planta completa (GUERRA e NODARI, 2006). Portanto, além de possibilitar a regeneração de novas plantas, o material micropropagado contem todas as informações genéticas da planta matriz.

A organôgenese e a embriogênese somática são rotas regenerativas presentes nessa técnica. A organogênese é uma via de desenvolvimento, onde os órgãos vegetais são induzidos à diferenciação a partir de uma ou várias células e a embriogênese somática é quando uma estrutura bipolar semelhante a um embrião zigótico desenvolve-se de uma célula não zigótica sem a conexão vascular com o tecido original (CHAKRABARTY et al, 2003). A embriogênese somática acaba desempenhando um importante papel na transformação genética, considerando-se que a expressão diferencial de um gene em células somáticas provoca mudanças na programação do desenvolvimento das células, com a capacidade de manifestar o potencial embriogênico (ZENG et al., 2006).

Para que a técnica de micropropagação tenha sucesso, as condições de cultivo são decisivas para a regeneração *in vitro*, como o tipo de meio de cultura, a concentração, reguladores de crescimento no meio, a temperatura do ambiente e a intensidade de luz (MITHILA et al., 2003; THAO et al., 2003).

A obtenção e multiplicação de mudas sadias podem ser consideradas como determinantes no sucesso da cultura do morangueiro. Mudas com sanidade comprovada chegaram a aumentar a produção em até 100% em relação às produções obtidas com mudas comuns da mesma cultivar. Esse aumento de produtividade está relacionado à ausência de patógenos nas mudas, principalmente de vírus. A partir de estudos feitos com morangueiros no mundo, a cultura é afetada por cerca de 30 espécies virais, em infecções individuais ou complexas, que causam diversos sintomas, resultando em danos como: redução na produção e baixo vigor vegetativo. As espécies virais mais importantes são: vírus transmitidos por pulgões, por moscas-brancas, e por nematoides (NICKEL, O; FAJARDO, T.V.M., 2016).

O método mais utilizado para obtenção de material vegetativo básico isento de vírus é a cultura de ápices meristemáticos *in vitro*. O meristema é um tecido não vascularizado, que permanece em ativa divisão celular, no ápice de raízes, hastes e brotações laterais das plantas. Na prática, explantes axilares ou apicais de estolões de morangueiros, de tamanho médio de 0,3 mm a 0,7 mm, são removidos para o cultivo *in vitro* geralmente resultam em maior sobrevivência e maior proporção de plantas regeneradas livres de vírus (SLACK, 1980).

Plantas submetidas à eliminação de vírus não são imunes à infecção, podendo ser infectadas novamente, portanto avaliações de sanidade de matrizes de morangueiros devem ser repetidas regularmente. Para diminuir esse risco, especialmente no caso de vírus transmitidos por vetores alados, é importante estabelecer um isolamento entre a produção de matrizes destinadas à produção de mudas e a zona de plantio comercial. O uso de tela antiafídica para a proteção de matrizes básicas por telados, impede o acesso de vetores de vírus e a reinfecção. E o de material micropropagado contribui para reduzir a presença de patógenos, como fungos de folhas e raízes, bactérias e nematoides (NICKEL, O; FAJARDO, T.V.M., 2016).

2.5. Conservação *in vitro*

A conservação *in vitro* é uma metodologia que vem sendo utilizada na manutenção de bancos de germoplasma. Germoplasma é um conjunto de materiais hereditários de uma espécie, ou seja, a totalidade de genótipos acessíveis utilizados para o melhoramento genético de certa cultivar. O banco ativo de germoplasma contém elevada diversidade genética, que deve ser preservada a fim de garantir seu emprego em programas de melhoramento das culturas vegetais, abrange também na manutenção de coleções em locais e condições distintas aos de ocorrência natural (TOWILL et al., 2000).

Possue vantagens em relação à conservação no campo, como: menor risco de perda do germoplasma, maior qualidade fitossanitária, rápida multiplicação, redução no custo de manutenção, disponibilidade imediata para propagação e menor necessidade de espaço (VALOIS et al., 2001). Como desvantagens dessa conservação, há a baixa taxa de micropropagação em algumas espécies e a necessidade de realizar subcultivos periódicos do material vegetal (SALOMÃO et al., 1997). A utilização da conservação *in vitro* é recomendada por motivos econômicos e práticos, principalmente por ser um componente importante na preservação de espécies ameaçadas de extinção (TORRES et al., 1998).

Na conservação *in vitro* utilizam-se técnicas para estabelecer um crescimento lento dos explantes, como a aplicação de redutores de crescimento ao meio de cultura (HARDING et al., 1997), a aplicação de retardantes osmóticos e hormonais ao meio de cultura (CHARRIER et al., 1991). Entre as substâncias retardantes de crescimento, tem o ácido abscísico, que bloqueia a ação de auxinas e giberelinas, e o paclobutrazol, que atua inibindo a síntese de giberelina. Na conservação *in vitro* de abacaxizeiro, o tratamento com paclobutrazol foi considerado o mais recomendado, por apresentar menor crescimento e permitir a manutenção de plantas em bom estado durante um ano, sem a necessidade de se realizar onze subcultivos, normalmente utilizados sem o uso desse regulador (CANTO et al.,2004). .A conservação *in vitro* de plantas, pode ser feita com tratamentos na regulação de agentes osmóticos e de temperaturas (18 e 25°C). Os agentes osmóticos promoveram um decréscimo no crescimento das plantas, no entanto reduziram a sua viabilidade. Os resultados observados nos experimentos mantidos a 18°C foram superiores aos encontrados a 25° C, para todas as variáveis

analisadas (BRITO et al., 2011). O sorbitol e o manitol são açúcares álcoois que geralmente não são metabolizados pelas plantas e por isso são empregados para a redução do potencial hídrico do meio de cultura na conservação *in vitro* (GEORGE, 1993). Outras estratégias vêm sendo adotadas para a obtenção do sucesso no estabelecimento de condições favoráveis a conservação *in vitro* nas culturas, como, a redução da temperatura nas salas de crescimento e a diminuição na concentração dos macronutrientes e micronutrientes e da dosagem de sacarose do meio de cultura, como para videira, batateira, morangueiro (DODDS e ROBERTS, 1993); macieira, pereira, ameixeira, cerejeira (WILKINS et al., 1988); e abacaxizeiro (ZEE e MUNEKATA, 1992).

Os explantes mais indicados para a técnica de conservação *in vitro* são de origem meristemática, pois suas células são mais resistentes às baixas temperaturas e também por apresentarem uma maior estabilidade genética e qualidade fitossanitária. Para a conservação de células e calos essa técnica não é tão segura devido à elevada incidência de variação somaclonal (TORRES et al., 1998). A variação somaclonal, pode ser de ordem fisiológica, genética e epigenética, por modificações químicas do DNA ou das proteínas que estão associadas a ele, as quais são transmitidas na divisão celular, mas que não constituem parte da sequência do DNA (CASSELLS e CURRY, 2001). Em plantas derivadas de cultura de tecidos têm sido descritas para muitas espécies trabalhos sobre a ocorrência de variação somaclonal, onde houve a variação em plantas regenerantes devido ao tipo de explante utilizado (NEHRA et al, 1994; SANTOS et al., 2004). Na propagação *in vitro* de morangueiros, anormalidades fenotípicas foram observadas pela ocorrência de variantes com folhas amareladas em plantas propagadas por cultura de meristema e por cultura de calos (NEHRA et al., 1994). Em trabalho feito com bananeira *in vitro*, houve o aparecimento de calos em determinada fase do processo de micropropagação. Esse aparecimento foi relacionado com a taxa de variação somaclonal que ocorreu a partir do sexto subcultivo (SANTOS et al., 2004). Os dados que relacionam o aumento da porcentagem da variação somaclonal com o número de subcultivos servem como alerta para o controle na produção de plantas micropropagadas, já que a variação somaclonal pode causar anomalias e possivelmente, reduzir o desempenho das plantas produzidas (SANTOS et al., 2004).

O uso de luz artificial vem sendo utilizado em vários setores da agricultura, principalmente em cultivo *in vitro*, por ser uma nova alternativa de fonte de luz mais eficiente. O uso de diodos emissores de luz (LEDs) além de proporcionar uma significativa economia de energia elétrica, pode auxiliar no desenvolvimento das brotações e a concentração de pigmentos fotossintetizantes, devido à melhoria na qualidade de luz (POUDEL et al., 2008; ROCHA et al., 2015). Os LEDs, entre as diferentes fontes de luz, vêm sendo utilizados no cultivo *in vitro* de plantas por possuírem longo período de vida útil com baixa produção de calor, menor consumo menos energia elétrica, com a possibilidade de utilização de equipamentos de refrigeração menos potentes na sala de cultivo. O uso de diferentes comprimentos de onda com LEDs podem afetar positivamente ou retardar o crescimento dos explantes (YEH e CHUNG, 2009). Na propagação *in vitro* de orquídeas Phaelenopsis (HUAN e TANAKA, 2003) e de bananeiras (DUONG et al., 2002), a utilização dos LEDs apresentaram resultados expressivos na qualidade da muda produzida e melhor eficiência no processo produtivo.

A utilização de LEDs na propagação *in vitro* oferece a possibilidade de se trabalhar com diodos de diferentes comprimentos de onda, como fonte luminosa, e atuar na fisiologia de algumas plantas, com alterações no porte e na taxa de propagação. Em cana-de-açúcar o uso de LEDs de luz vermelha (620-630 nm) reduziu o porte das plântulas e a massa de matéria fresca quando comparadas a plântulas expostas à luz branca (BARROS et al., 2011). Em heliconia, a redução no porte das plântulas *in vitro* ocorre tanto em luz vermelha (620-630 nm) quanto em luz azul (455-475 nm). A luz azul também apresentou maior eficiência na manutenção das plântulas com crescimento reduzido sem alterar sua qualidade mesmo após 12 semanas mantidas *in vitro* (RODRIGUES et al, 2018).

2.6. Aclimatização

Após estarem prontas, as plântulas são transferidas do laboratório, onde se encontram em condições assépticas e em ambiente controlado, para um ambiente natural, normalmente é uma casa de vegetação. Nesse processo, chamado de aclimatização, as plântulas precisam se adaptar ao novo ambiente externo, onde irão crescer e se desenvolver (FORTES e PERREIRA, 2003). Para que a

aclimatização dessas plântulas tenha sucesso, todo o processo deve ser feito sob condições controladas (ZIMMERMAN, 1988). Esse processo pode ser considerado crítico, devido à mudança radical que a planta sofre, pois ela sai um meio de cultura *in vitro*, onde a transpiração é reduzida, o meio é asséptico e a disponibilidade de nutrientes é elevada (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A transpiração do tecido vegetal é o que vai determinar a sobrevivência das plantas nos primeiros dias após a aclimatização, pois a temperatura ideal seria mais amena e a umidade do ar mais elevada (SOUZA et al., 2006). Outros fatores que também podem interferir no crescimento da planta na fase de aclimatização é o substrato. Substrato com elevado espaço de aeração e alta capacidade de retenção de água favorecem essa etapa, pois proporciona estabilidade da parte aérea, fixação do sistema radicular, suprimento de água e nutrientes (SILVEIRA et al., 2002). Em estudos de aclimatização com plantas de morangueiros da cv. Campinas, o substrato de casca de arroz queimada com turfa preta mostrou-se mais eficaz na sobrevivência, crescimento e qualidade das mudas (CALVETE et al., 2000).

Outro fator que pode interferir na aclimatização das plantas é a luminosidade do ambiente. Para mudas de bananeira foi observado 100% de sobrevivência das plantas que estavam na condição de 50% de sombreamento, além de apresentar as maiores médias de comprimento, diâmetro e número de folhas (PEREIRA, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas Ornamentais– LCTPO, do Departamento de Produção Vegetal, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – USP, em Piracicaba, SP. Explantes de morangueiro cv. Camarosa, cultivados *in vitro*, foram obtidos em forma de contribuição na Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), em Tietê, SP. Os explantes vieram em 3° subcultivo e foram mantidos em frascos de vidro (10,0 cm de comprimento por 10,0 cm de diâmetro) contendo 40 ml de meio de cultura MS (Murashige e Skoog) semi-sólido, com a adição de vitaminas do MS; 30 g de sacarose L^{-1}; 1,8 g L^{-1} de agente gelificante Phytagel®, foram incubados a uma temperatura de 25 °C ± 2, fotoperíodo de luz de 16/8 h (luz/escuro), a 50 $\mu mol.m^2.s^{-1}$ (Figura 1A).

Explantes foram selecionados e transferidos para tubos de ensaio PYREX® (15 cm de comprimento por 2,5 cm de diâmetro) com tampas de polipropileno Kimble de diâmetro 25 mm, contendo 10 mL de meio de cultura semi-sólido MS, com a adição de vitaminas de MS; 30 g de sacarose L^{-1}; 1,8 g L^{-1} de agente gelificante Phytagel®; e 0,1 mg L^{-1} de IBA (ácido idolbutírico); com pH ajustado para 5,8 antes da esterilização (Figura 1B).

Figura 1. Explantes *in vitro* de morangueiro da cultivar Camarosa, mantidas em frascos, obtidas na Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), em Tietê, SP (A). Explantes de morangueiro transferidas para os tubos de ensaio utilizados no experimento (B).

Após a transferência dos explantes, os tubos de ensaio foram distribuídos em quatro prateleiras distintas, sendo cada prateleira utilizada para um tratamento de espectro de luz distinto, formados por sistemas de iluminação de LED nas cores 100% vermelha (620-630 nm), 100% azul (455-475 nm), mista (70% vermelha + 30% azul) e a luz branca (380-780 nm), como controle. O experimento foi realizado em sala de crescimento a uma temperatura de 25 ºC ± 2 em fotoperíodo de 16/8 h (claro/escuro) (Figura 2). Para a caracterização dos espectros de luz emitidos pelas LEDs presentes em cada tratamento, mediu-se o comprimento de onda com auxílio de um radioespectômetro (Anexo A).

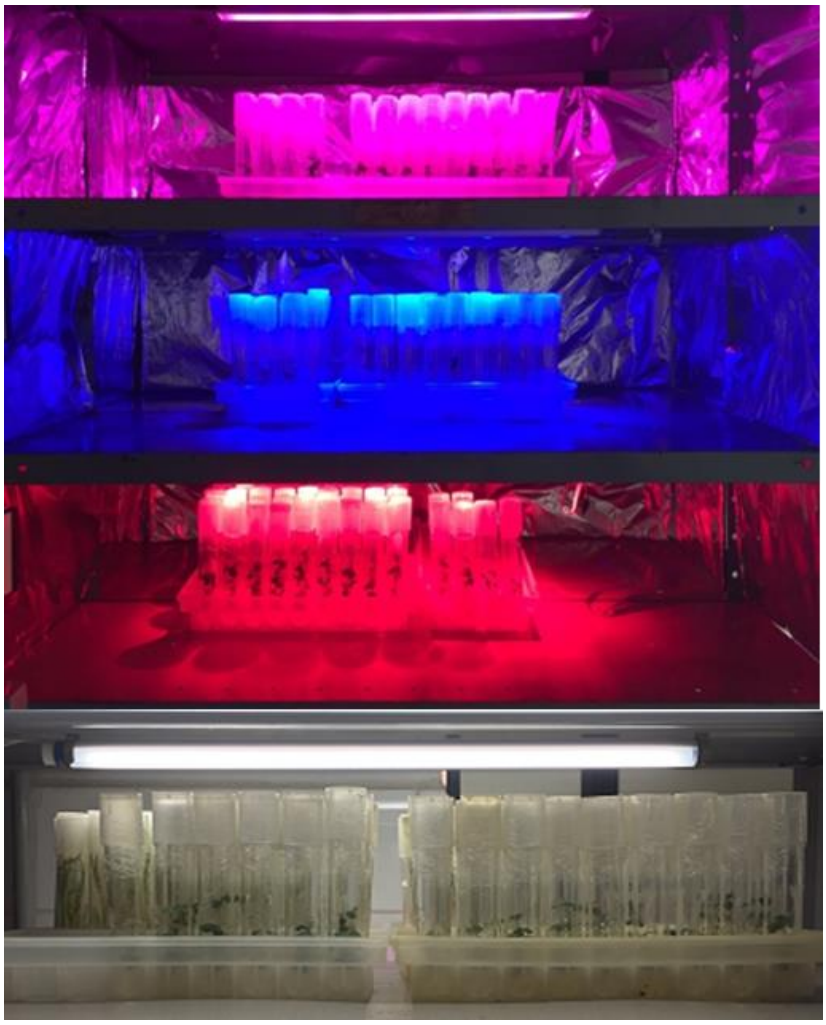


Figura 2. Tubos de ensaios com os explantes de morangueiro cv. Camarosa, distribuídos em quatro prateleiras com diferentes espectros de luz formados por sistemas de iluminação de LED nas cores 70% vermelho + 30% azul, 100% azul, 100% vermelho e o controle branco, de cima para baixo.

Cada tratamento consistiu de 42 tubos de ensaios, contendo um explante de morangueiro cada, dispostos equidistantes para receber uniformemente o respectivo espectro de luz. Após os explantes tornarem-se plântulas, avaliou-se o crescimento e desenvolvimento das plântulas em cinco intervalos de tempo de conservação, aos 28, 56, 84, 112 e 140 dias, sem ocorrência de subcultivos em cada intervalo de tempo de conservação. Para cada avaliação oito tubos de ensaio foram retirados de cada tratamento. As plântulas foram removidas dos tubos de ensaios e lavadas em água corrente, para retirada do meio de cultura, e avaliou-se a altura da planta, da base do caule até a ponta da maior folha (cm); diâmetro da base do caule (mm); número de folhas; peso fresco da planta (g); número de raízes; comprimento da maior raiz (cm); e o número de brotações por plântula. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado no arranjo de parcelas subdivididas, sendo as parcelas representadas pelos tratamentos e as subparcelas por tempo. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os valores médios foram comparados pelo teste de Scott-Knott ao nível de significância de 5%.

Para a determinação dos teores de clorofila, folhas de plântulas de cada tratamento, foram coletadas nos cinco intervalos de tempo de conservação, e acondicionadas em papel alumínio no congelador a -6°C. A extração da clorofila seguiu o método descrito por Lichtenthaler e Wellburn (1983), em que 0,05 g de folhas foram colocados em frascos e em seguida adicionado 3 mL de acetona 80%. Foram feitas três repetições de cada tratamento, totalizando 60 amostras. Logo após, os frascos foram armazenadas a 4°C por 72 horas. Após esse período, realizaram-se as leituras de absorbância das soluções em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 663 nm para a clorofila *a* e de 645 nm para a clorofila *b.* Os valores obtidos foram divididos pela massa total em gramas da amostra. Para o cálculo de clorofila a utilizou-se a equação: Ca= 12,25 x (Absorbância a 663nm) – 2,79 x (Absorbância a 645nm) e para a clorofila b, Cb= 21,50 x (Absorbância a 645) – 5,10 x (Absorbância a 663nm). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os valores médios foram comparados pelo teste de Scott-Knott, ao nível de significância de 5%.

As avaliações relativas à altura de plântulas, massa de plântulas, número de brotações, número de raízes, comprimento da maior raiz, diâmetro do caule e número de folhas, teve início 28 dias após a inoculação (DAI), sendo avaliados a cada 28 dias até 140 DAI, compondo cinco avaliações. Após as avaliações, nos

respectivos intervalos de tempo de conservação, as plântulas foram aclimatizadas em bandejas de 24 células, utilizando o substrato comercial “BASE Horticultura”, e mantidas em estufa com 80% de sombreamento (Aluminet) e umidade relativa de 90% durante 21 dias (Figura 3). Após esse período, avaliou-se a sobrevivência das plantas, expressa em porcentagem, o número de folhas, diâmetro do caule e a altura das plantas.

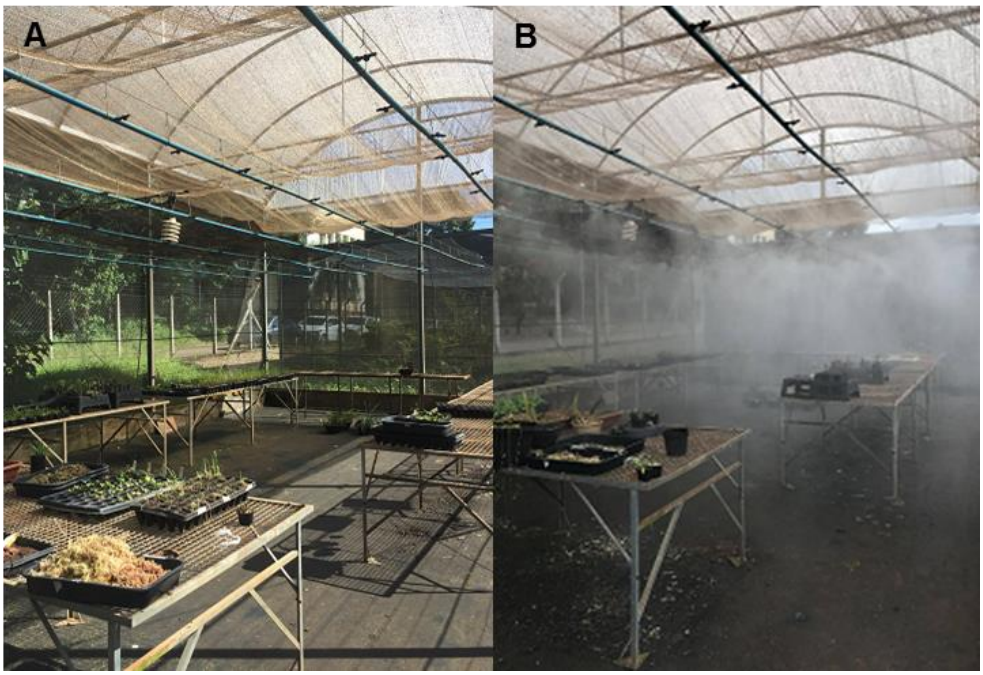


Figura 3. Estufa utilizada para a aclimatização das plantas de morangueiro cv. Camarosa, após cada intervalo de tempo de conservação *in vitro* sob diferentes espectros de luz (A). Estufa com o temporizador ligado (B).

4. RESULTADOS

As plântulas submetidas aos LEDs com diferentes espectros de luz, nas duas primeiras avaliações (28 e 56 DAI) não apresentaram diferenças em relação à altura. Entretanto, a partir da terceira avaliação, 84 DAI, as plântulas sob a luz vermelha tiveram o seu crescimento diferenciado atingido alturas superiores às plântulas submetidas aos outros espectros de luz. A partir dos 112 DAI pode-se observar que as plântulas no espectro vermelho foram as mais altas e as plântulas submetidas à cor azul foram as que tiveram o menor crescimento em relação aos diferentes espectros de luz (Tabela 1). Ao longo do período avaliado, as plântulas submetidas ao LED de cor vermelha foram as que tiveram o maior crescimento e as plântulas submetidas ao LED de cor azul o menor crescimento (Figura 4). O LED de cor mista (30% azul e 70% vermelha) foi muito similar ao LED de cor branca (Tabela 1). Os mesmo resultados foram apresentados com Heliconia champneiana, onde a luz azul induziu uma menor altura das plântulas (RODRIGUES et al., 2018).

Tabela 1. Altura das plântulas (cm) de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	3,93 aA*	4,83 aA	5,40 bA	5,40 bA	5,10 bA
Mista	4,88 aA	5,36 aA	6,21 aA	5,75 bA	5,73 bA
Vermelha	5,36 aB	6,08 aB	7,42 aA	8,21 aA	7,11 aA
Azul	4,66 aA	4,18 aA	4,51 bA	3,75 cA	3,56 cA

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

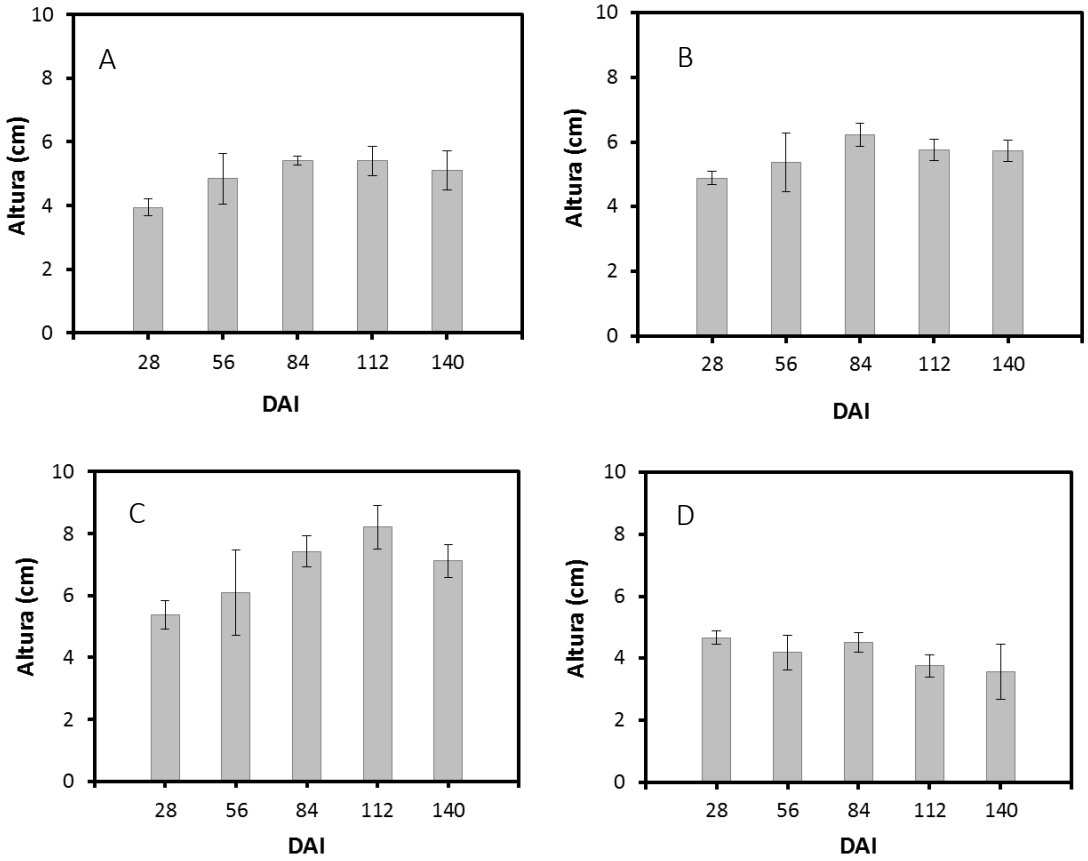


Figura 4. Altura das plântulas (cm) de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliadas em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem ao erro padrão.

As plântulas sob LED de cor mista e sob LED de cor vermelha foram as que apresentaram o maior ganho de massa diferenciando-se dos demais tratamentos (Tabela 2; Figura 5). No final do experimento, 140 DAI, o tratamento com cor mista foi o que propiciou uma maior massa das plântulas (Tabela 2). As plântulas sob LED de espectro de cor azul, assim como para altura de plântulas, foram as que apresentaram menor massa (Tabela 2) e com valores constantes ao longo do experimento (Figura 5). O LED de cor branca propiciou uma massa de plântulas com valores intermediários em relação aos demais tratamentos. Esses resultados foram similares aos observados em experimento em heliconia (*Heliconia champneiana*), os explantes submetidos à luz azul foi o que induziu um menor ganho de massa fresca e os explantes submetidos a cor mista foi o que induziu um maior ganho de massa (RODRIGUES et al., 2018)

Tabela 2. Massa (g) das plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	0,27 aB*	0,45 bB	0,88 bA	0,71 bA	0,92 bA
Mista	0,49 aD	0,87 aC	1,24 aB	1,22 aB	1,71 aA
Vermelha	0,39 aB	0,65 aB	0,74 bB	1,14 aA	1,04 bA
Azul	0,39 aA	0,34 bA	0,51 bA	0,44 bA	0,53 cA

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

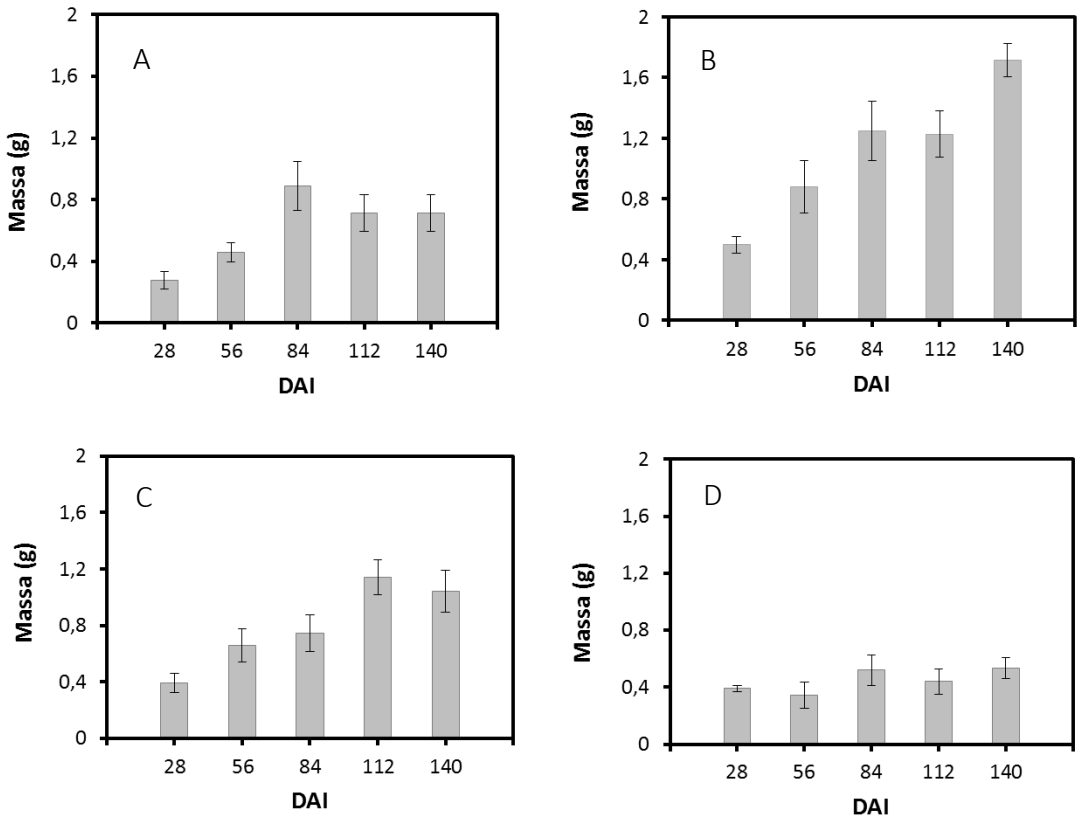


Figura 5. Massa (g) de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliadas em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

As plântulas sob todos os espectros de luz utilizados apresentaram brotação na primeira avaliação, aos 28 DAI (Tabela 3). As plântulas sob LED de cor mista, a partir de 56 DAI, foram as que apresentaram maior número de brotos formados. As plântulas sob a cor vermelha, a partir de 112 DAI até o fim do experimento em 140 DAI, apresentaram junto com a cor mista o maior número de brotos por plântulas em relação aos demais tratamentos (Tabela 3; Figura 6). As plântulas sob a cor azul e branca foram as que apresentaram o menor número de brotos. Em todos os

tratamentos, para todos os intervalos de tempo de conservação, o número de brotos por plântula foi baixo variando entre 1 e 2,2 (Tabela 3; Figura 6).

Tabela 3. Número de brotos em plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	1,00 aA*	1,32 bA	1,20 bA	1,72 aA	1,12 bA
Mista	1,62 aA	2,20 aA	1,85 aA	2,00 aA	2,12 aA
Vermelha	1,00 aB	1,60 bA	1,20 bB	1,71 aA	1,80 aA
Azul	1,40 aA	1,33 bA	1,66 aA	1,25 aA	1,00 bA

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

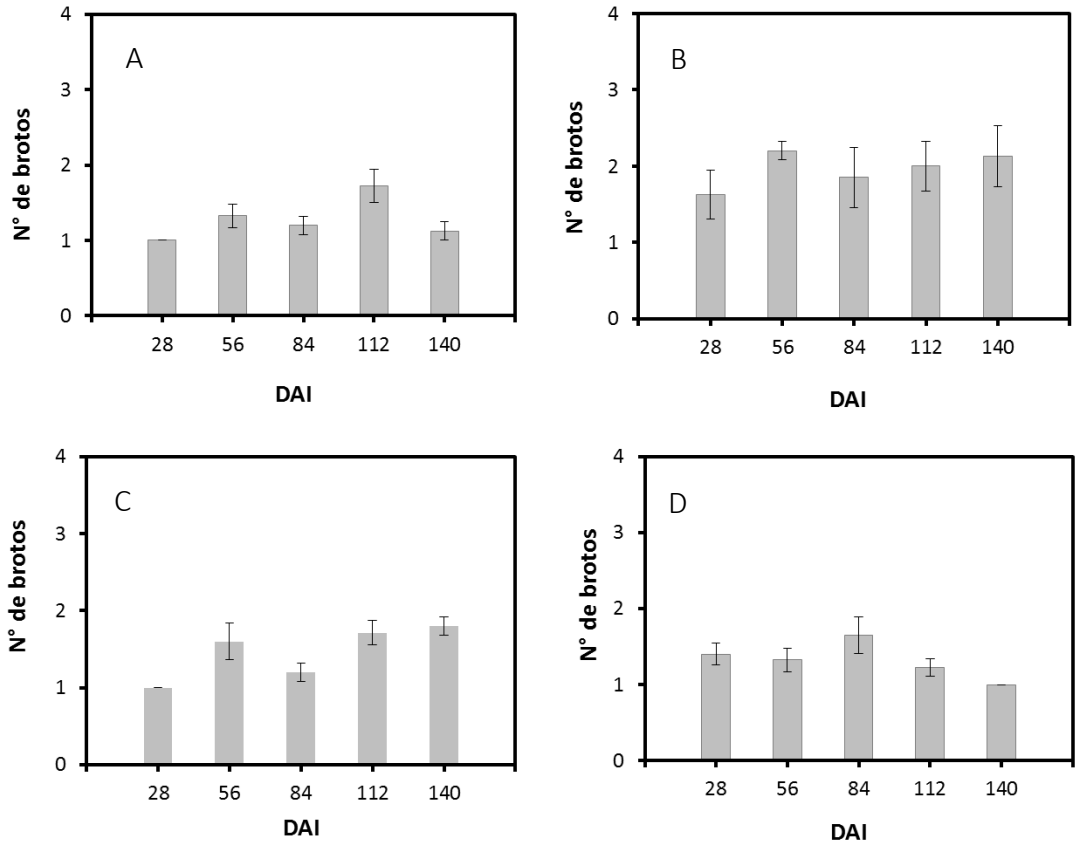


Figura 6. Número de brotos em morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B),vermelho (C) e azul (D), avaliadas em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

Para o comprimento de raiz, a partir da segunda avaliação, 56 DAI, as plântulas sob LED de cor azul apresentaram os menores valores até o final do experimento, 140 DAI (Tabela 4). Ao longo do experimento as plântulas sob a cor azul, assim como a altura das plântulas, apresentaram os menores comprimentos de

raízes em comparação às plântulas sob as cores branca, mista e vermelha (Figura 7). Em experimento com Heliconia, plântulas sob a luz azul apresentaram um menor comprimento e número de raízes (RODRIGUES et al., 2018), mostrando-se semelhante ao resultado obtido nesse experimento.

Tabela 4. Comprimento de raiz (cm) de plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	2,90 aB*	10,55 aA	10,46 aA	11,20 aA	9,28 aA
Mista	3,76 aB	9,00 aA	8,41 aA	10,46 aA	8,23 aA
Vermelha	3,70 aB	8,41 aA	11,42 aA	10,41 aA	9,81 aA
Azul	1,35 aB	3,84 bA	4,03 bA	6,43 bA	2,32 bB

**Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

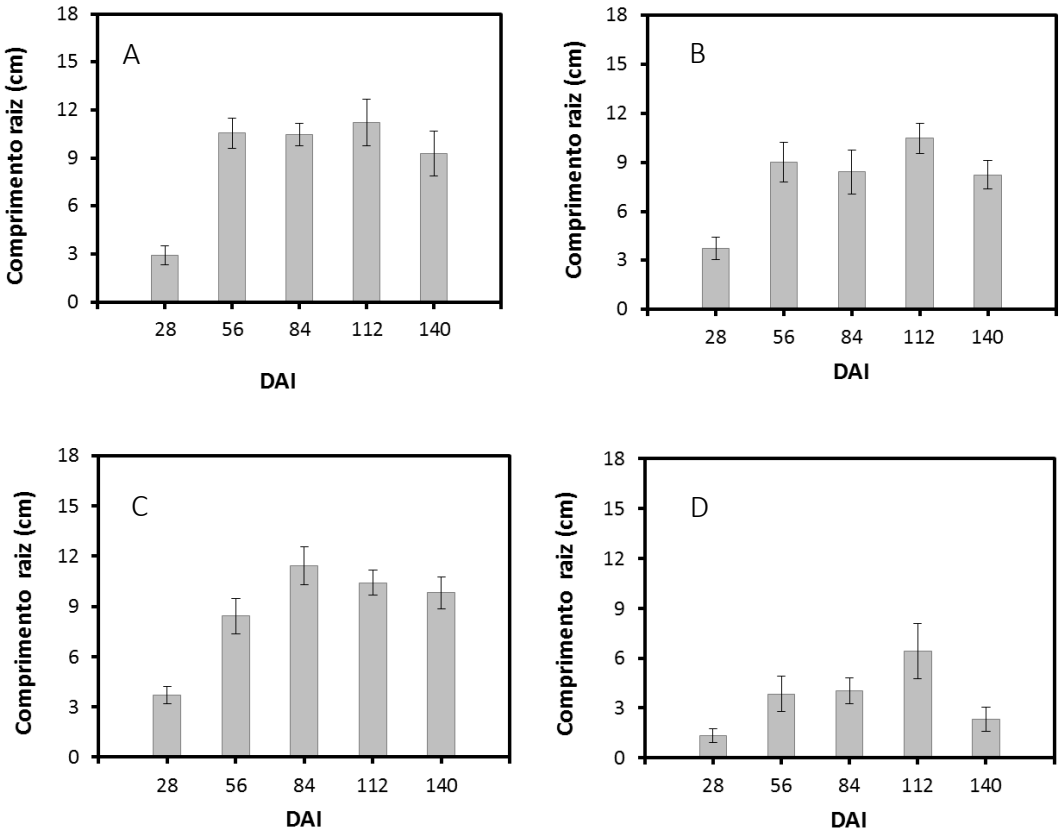


Figura 7. Comprimento de raízes de plântulas (cm) de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

As plântulas sob LED de cor azul também apresentaram o menor diâmetro do caule em relação às plântulas colocadas sob os demais espectros de luz utilizados no experimento (Tabela 5; Figura 8). Diferentemente das plântulas na cor azul, nos demais tratamentos houve um aumento no diâmetro do caule das plântulas a partir de 112 DAI (Tabela 5).

Tabela 5. Diâmetro do caule (mm) das plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	2,18 aB*	1,48 aB	1,72 aB	2,52 aA	3,08 aA
Mista	2,93 aA	2,42 aB	1,95 aB	2,62 aA	3,17 aA
Vermelha	2,56 aA	1,95 aB	1,63 aB	2,76 aA	2,70 aA
Azul	1,92 aA	1,52 aA	1,80 aA	1,40 bA	1,75 bA

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

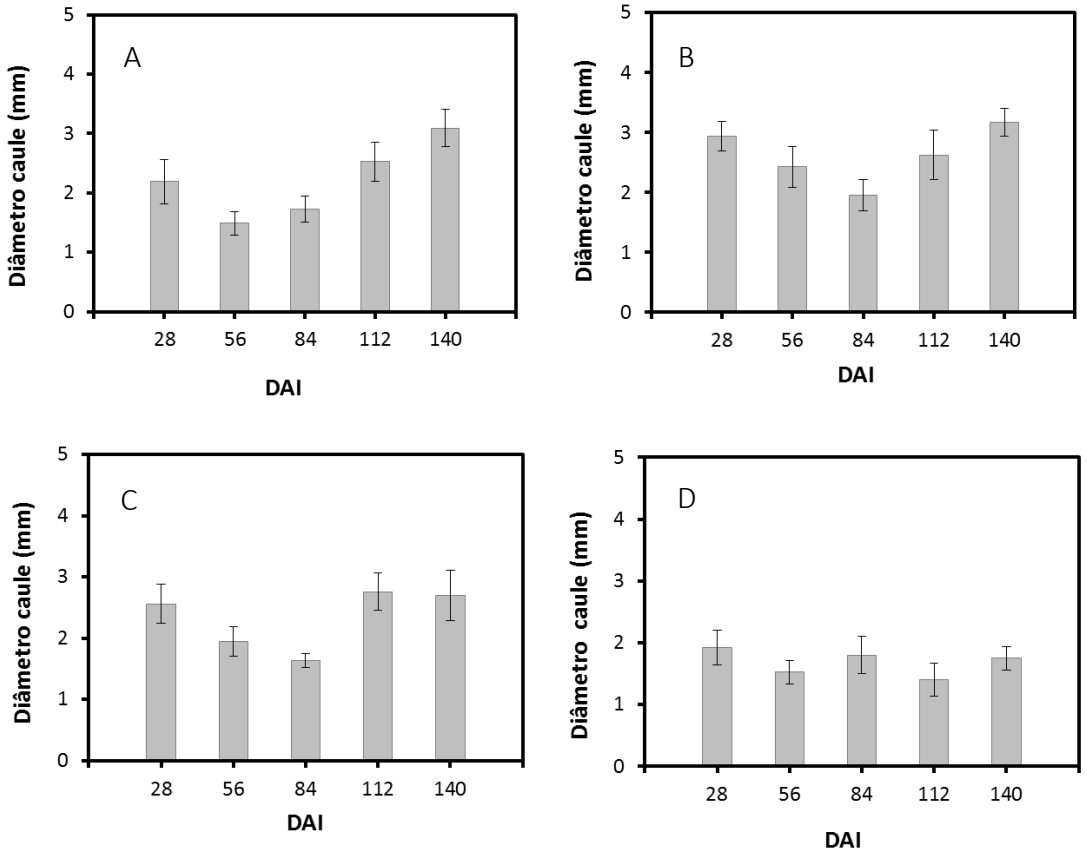


Figura 8. Diâmetro do caule de plântulas (cm) de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

As plântulas de morangueiro cv. Camarosa apresentaram até 84 DAI número similar de folhas nos diferentes tratamentos com espectro de luz (Tabela 6). A maior quantidade de folhas foi observada nos tratamentos de cor mista e vermelha aos 112 DAI. Aos 140 DAI houve uma redução no número de folhas em plântulas de todos os tratamentos testados, inclusive na cor branca (Tabela 6; Figura 9). Os resultados obtidos foram diferentes aos obtidos em experimento com Heliconia, em que os tratamentos com cor mista e vermelha induziram um menor número de folhas por plântulas (RODRIGUES et al., 2016).

Tabela 6. Número de folhas (número) em plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	11,25 aB*	14,62 aA	20,12 aA	17,00 bA	6,33 aB
Mista	10,00 aB	18,50 aA	20,37 aA	20,12 aA	6,50 aB
Vermelha	6,62 aC	12,62 aB	15,37 aB	25,25 aA	5,50 aC
Azul	8,75 aA	10,12 aA	14,12 aA	11,62 bA	1,00 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

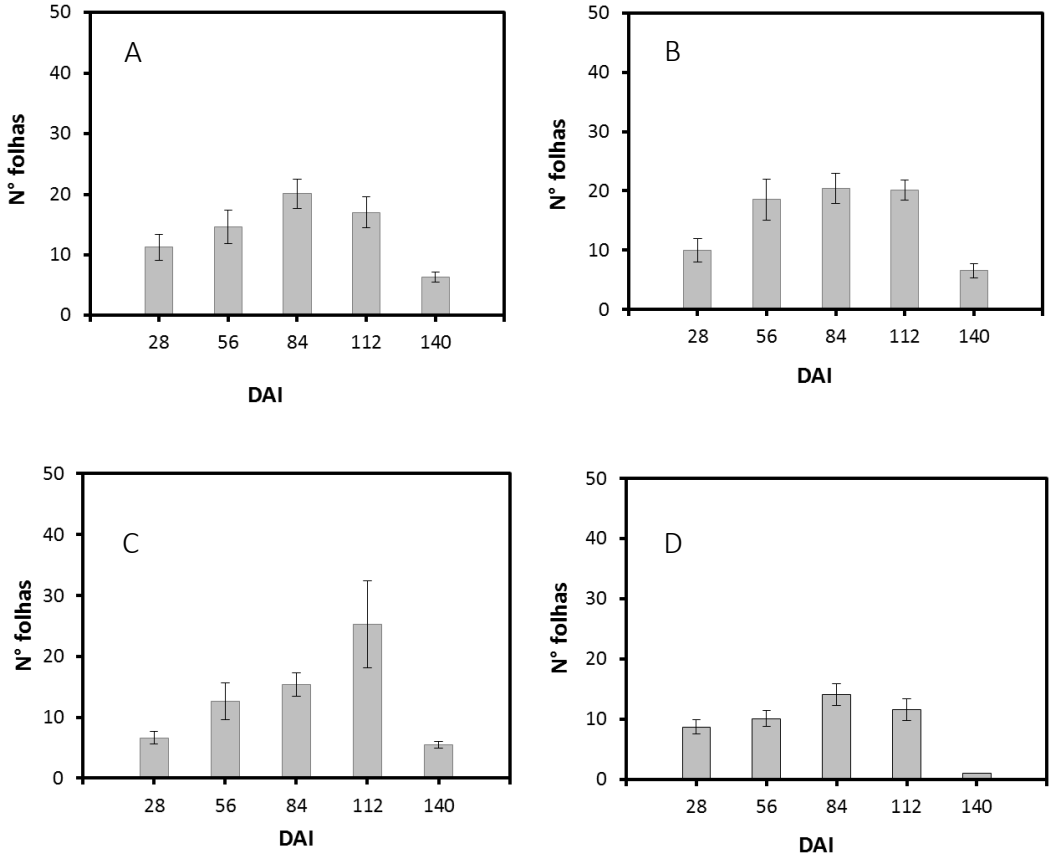


Figura 9. Número de folhas em plântulas de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

As plântulas de morangueiro cv. Camarosa sob LED de cor azul foi o que apresentou, ao longo do experimento o menor número de raízes, em relação as plântulas submetidas em outros espectros de luz (Tabela 7; Figura 10). Aos 112 DAI, as plântulas sob a luz mista e vermelha foram as que apresentaram maior número de raízes. Aos 140 DAI, apenas as plântulas sob LED de cor azul apresentaram número de raízes menor do que os demais espectros de luz (Tabela 7).

Tabela 7. Número de raiz de plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	3,62 aA*	8,00 aA	8,62 aA	6,50 bA	6,00 aA
Mista	4,12 aB	11,57 aA	11,87 aA	10,25 aA	8,87 aA
Vermelha	3,12 aB	10,00 aA	9,37 aA	9,87 aA	9,50 aA
Azul	2,50 aA	3,00 bA	5,50 bA	4,25 bA	2,25 bA

**Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

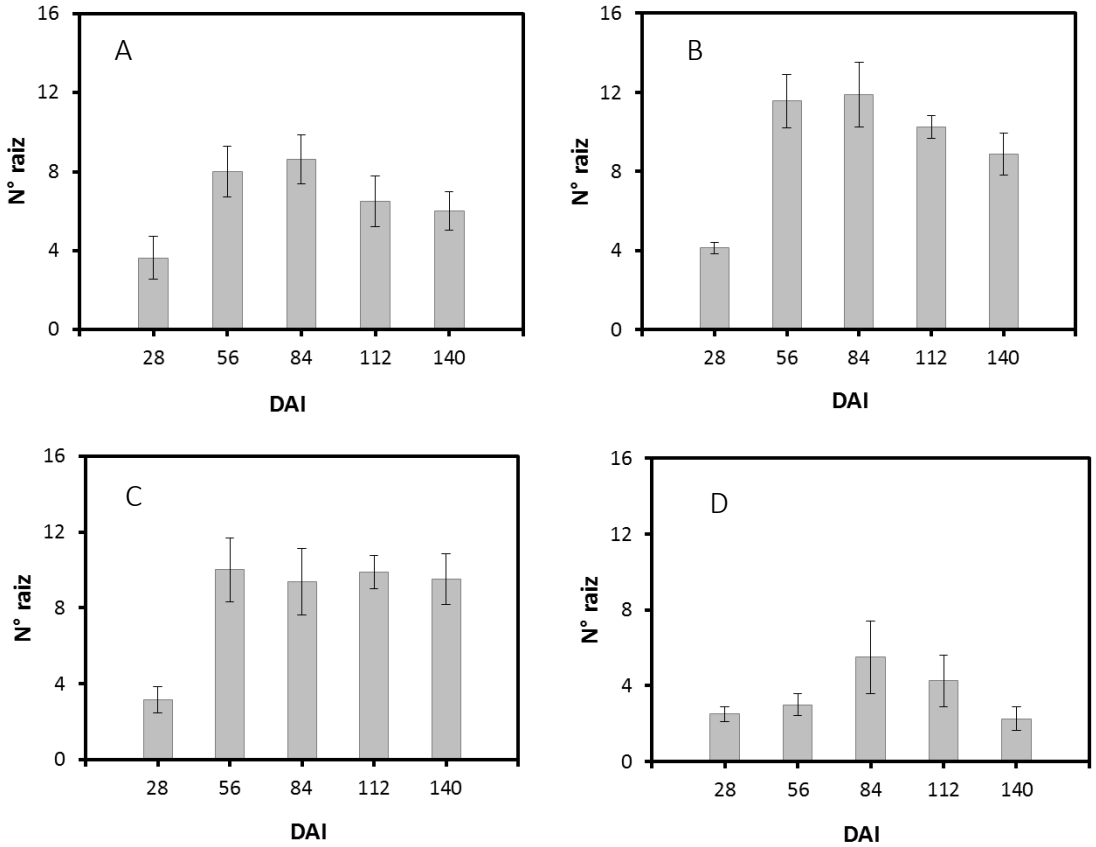


Figura 10. Número de raízes em plântulas de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

Para a clorofila a, folhas de plântulas, em todas as avaliações, apresentaram o mesmo teor sob os diferentes espectros de luz (Tabela 8; Figura 11). Entre as épocas de avaliação, houve uma redução na clorofila a em todos os espectros de luz, com exceção para a cor azul em que a clorofila a manteve-se constante até 140 DAI (Tabela 8; Figura 11). A redução da clorofila a ocorreu a partir de 112 DAI, no final do experimento.

Tabela 8. Teor de clorofila a (mg g^{-1}) em folhas das plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	0,96 aA*	0,85 aA	0,76 bA	0,79 aA	0,52 aB
Mista	0,95 aA	0,74 aB	1,05 aA	0,66 aB	0,40 aC
Vermelha	0,78 aA	0,96 aA	0,76 bA	0,80 aA	0,45 aB
Azul	0,75 aA	0,70 aA	0,57 bA	0,71 aA	0,53 aA

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

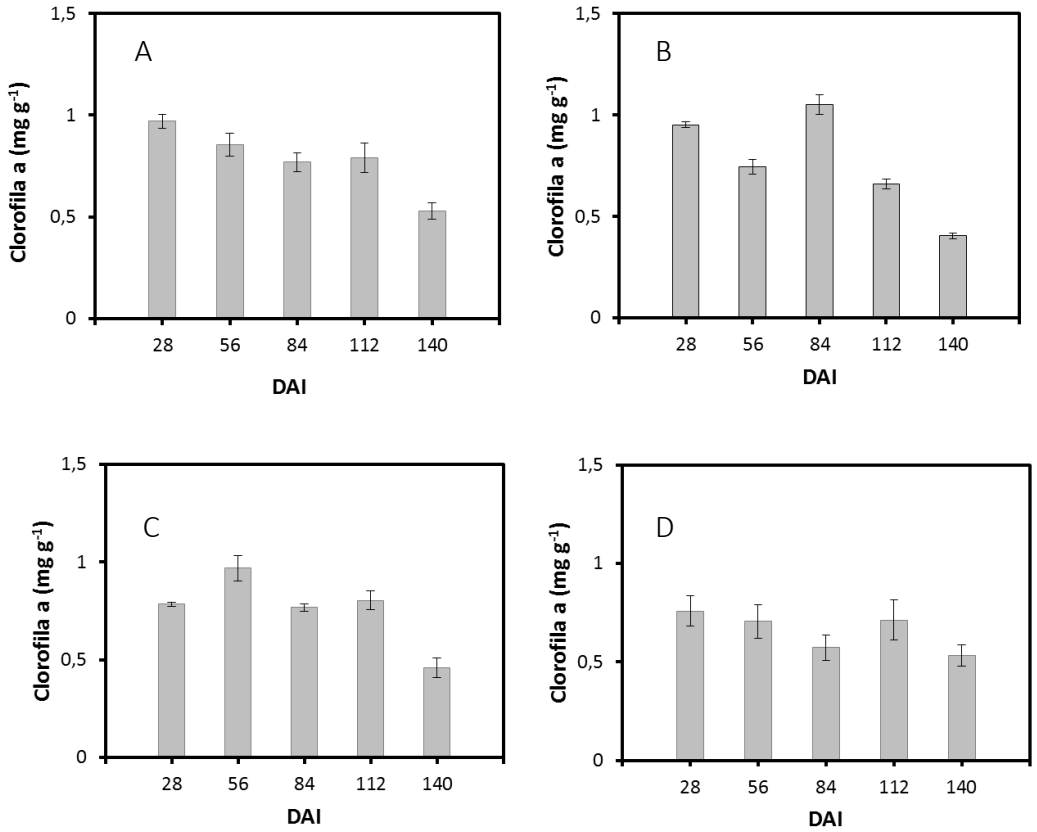


Figura 11. Teor de clorofila a (mg g^{-1}) em plântulas de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

Para a clorofila b, as plântulas sob LED de cor vermelha não mostraram diferenças em seu teor ao longo do experimento (Tabela 9; Figura 12). Os tratamentos com cor branca e mista apresentaram redução na quantidade de clorofila b a partir de 84 e 112 DAI, respectivamente (Tabela 9). E sob o tratamento azul, houve uma diminuição de clorofila b 140 DAI. Entre os espectros de luz, não ocorreu diferenças entre os tratamentos em cada período avaliado (Tabela 9).

Tabela 9. Teor de clorofila b (mg g^{-1}) em folhas de plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas sob os diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	0,46 aA*	0,51 aA	0,36 aB	0,38 aB	0,27 aB
Mista	0,58 aA	0,41 aA	0,46 aA	0,31 aB	0,23 aB
Vermelha	0,43 aA	0,52 aA	0,36 aA	0,38 aA	0,26 aA
Azul	0,48 aA	0,42 aA	0,31 aA	0,34 aA	0,28 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

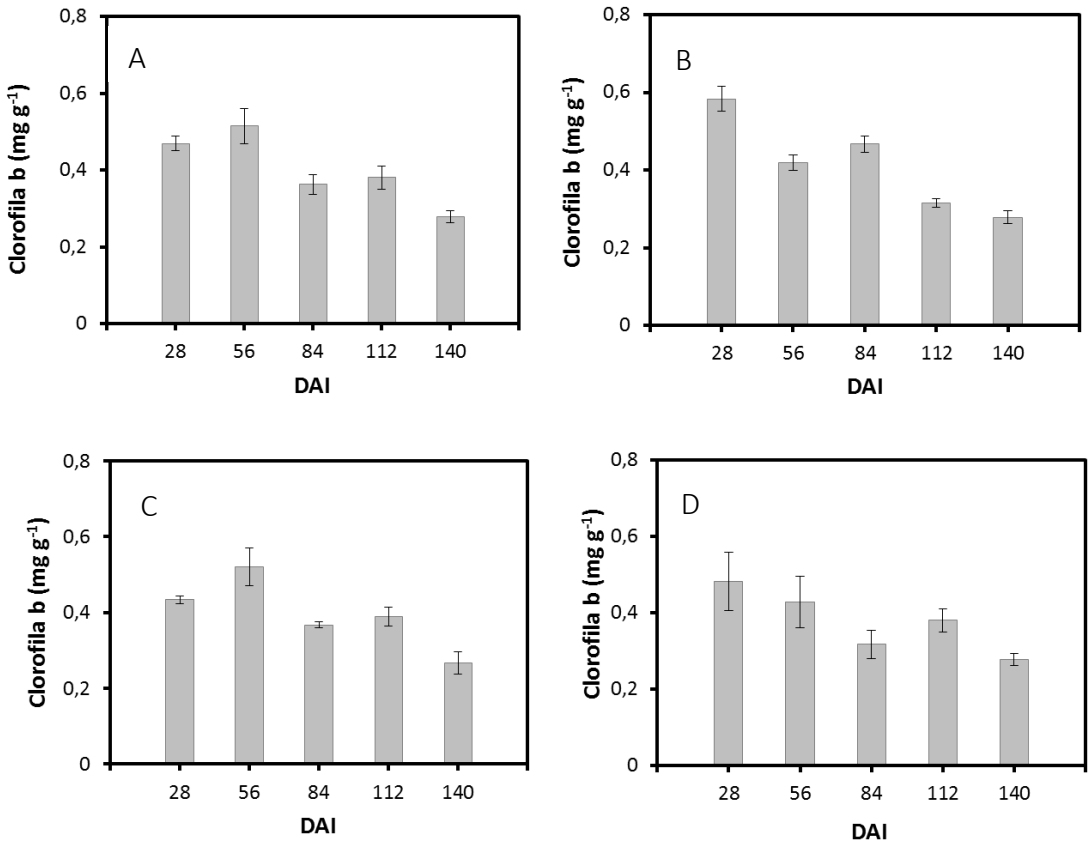


Figura 12. Teor de clorofila b (mg g^{-1}) em plântulas de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

Para o teor de carotenoides, não houve diferença entre os tratamentos de espectro de luz em cada período avaliado (Tabela 10). Ao longo das avaliações, no tratamento de cor mista, vermelha e azul apresentaram decréscimos no teor de carotenoides ao longo do tempo (Figura 13; Tabela 10).

Tabela 10. Teor de carotenoides (mg g^{-1}) em folhas de plântulas de morangueiro cv. Camarosa conservadas sob os diferentes espectros de luz, avaliadas em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	0,88 aA*	0,81 aA	0,78 aA	0,89 aA	0,70 aA
Mista	0,95 aA	0,73 aB	0,94 aA	0,74 aB	0,53 aB
Vermelha	0,74 aA	0,93 aA	0,93 aA	0,89 aA	0,53 aB
Azul	0,77 aA	0,72 aA	0,62 aA	0,61 aA	0,54 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

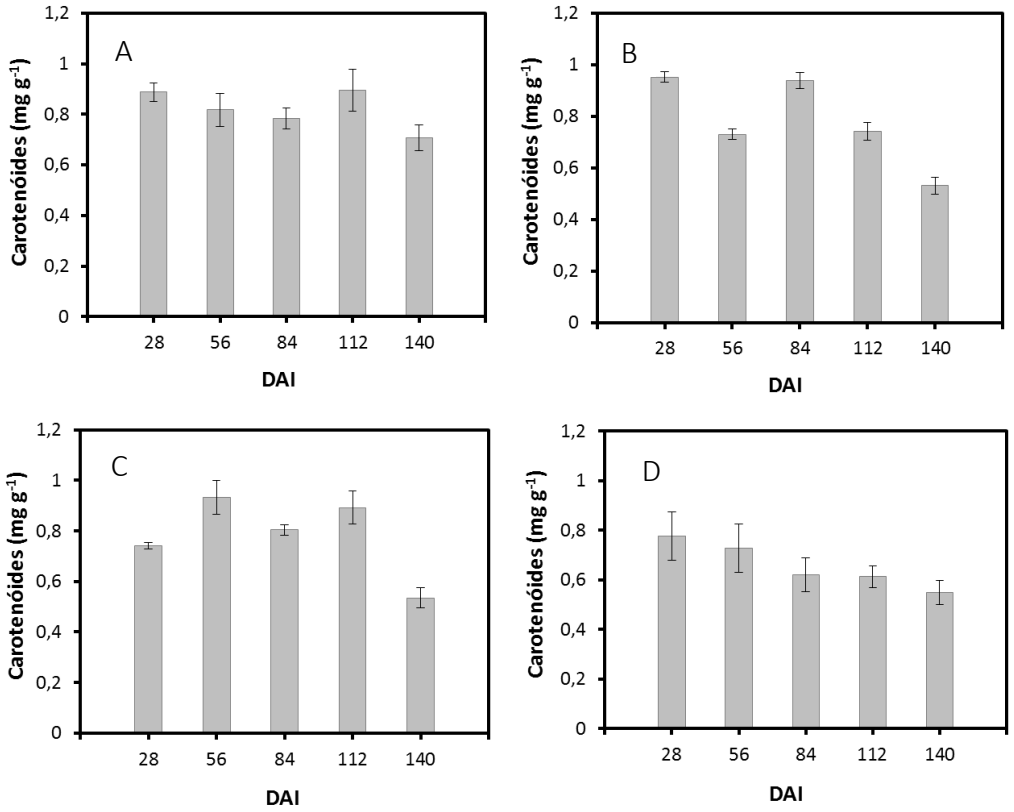


Figura 13. Teor de carotenoides (mg g^{-1}) em plântulas de morangueiros cv. Camarosa conservadas *in vitro* sob os espectros de luz branca (A), mista (30% azul + 70% vermelha) (B), vermelho (C) e azul (D), avaliados em dias após a inoculação (DAI). As barras correspondem o erro padrão.

Na etapa de aclimatização, as plântulas avaliadas nos cinco intervalos de tempo de conservação *in vitro* (28, 56, 84, 112 e 140 DAI), sob diferentes espectros de luz, foram transplantas em bandejas contendo substrato e levadas em estufa com nebulização e sob tela de sombreamento, por um período de 21 dias, para adaptação ao substrato e ao meio externo.

Pelos resultados obtidos observou-se que nenhuma plântula mantida *in vitro* por 140 dias após a inoculação, independentemente do tratamento de luz, sobreviveu após 21 dias de aclimatização (Figura 14). Os tratamentos *in vitro* sob a luz vermelha e mista foram a que mantiveram a maior quantidade de plântulas vivas (100%) na aclimatização, com o maior tempo de intervalo entre a inoculação e o transplantio, por 84 dias (Figura 14). As plântulas mantidas sob a cor azul, foram que tiveram menor taxa de sobrevivência, em relação às demais cores, até 84 DAI. Aos 112 dias todas as plântulas transplantadas que estavam sob a luz branca morreram (Figura 14).

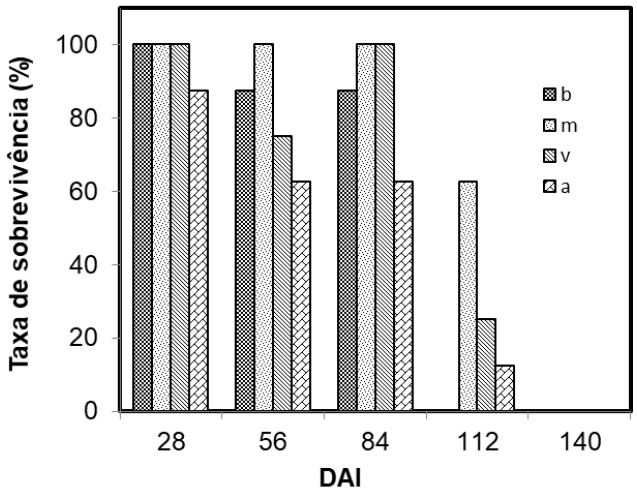


Figura 14. Taxa de sobrevivência de plântulas de morangueiro cv. Camarosa cultivadas *in vitro* por diferentes períodos, em dias após a inoculação (DAI) sob os espectros de luz (b: branca, m: mista 30% azul e 70% vermelha, v: vermelha e a: azul), transplantadas para bandejas contendo substrato e aclimatizadas em estufa por 21 dias.

As plântulas de morangueiro depois de 21 dias de aclimatização, que foram conservadas sob a luz mista foram as que mantiveram o maior número de folhas, em relação aos outros tratamentos, até 84 dias (Tabela 11). As plântulas que foram tratadas *in vitro* com a cor azul foram as que apresentaram após 21 dias de aclimatização menor número de folhas em relação aos demais tratamentos (Tabela 11). No quarto intervalo de tempo de conservação, as plantas apresentaram uma queda abrupta no número de folhas formadas na aclimatização, para todos os tratamentos. No último intervalo de tempo de conservação, 140 DAI as plântulas de todos os tratamentos estavam mortas (Tabela 11). A ocorrência de folhas amarelas pode estar associada ao estresse causado pelo ambiente *in vitro* resultante da

escassez de nutrientes no meio de cultura, e/ou dificuldades em trocas gasosas, acelerando o processo de senescência. Essas características são comumente observadas em explantes que excedem o tempo máximo de permanência *in vitro* (PIMENTA et al., 2013; KEVERS et al., 2004).

Tabela 11. Número de folhas das plântulas de morangueiro cv. Camarosa acondicionadas em bandejas contendo substrato e aclimatizadas por 21 dias em estufa, submetidas anteriormente a diferentes tratamentos de cores na micropropagação, em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	15,50 aA*	11,25 bB	8,62 aB	0,00 aC	0,00 aC
Mista	14,00 aA	16,25 aA	12,87 aA	2,00 aB	0,00 aB
Vermelha	9,12 bA	8,00 cA	8,25 aA	1,12 aB	0,00 aB
Azul	7,37 bA	3,12 dB	3,00 bB	1,12 aB	0,00 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

Em relação ao diâmetro do caule das plantas aclimatizadas, não houve diferença nos tratamentos no primeiro intervalo de tempo. Já no segundo intervalo de tempo, as plantas aclimatizadas sob luz azul, teve uma diminuição no diâmetro do caule, diminuindo até o quinto intervalo de tempo onde ocorreu a morte de todas as plântulas (Tabela 12).

Tabela 12. Diâmetro do caule (mm) de plântulas de morangueiro cv. Camarosa acondicionadas em bandejas contendo substrato e aclimatizadas por 21 dias em estufa, submetidas anteriormente a diferentes tratamentos de cores na micropropagação, em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	1,58 aA*	1,32 aA	1,06 bA	0,00 aB	0,00 aB
Mista	1,83 aA	1,72 aA	1,67 aA	0,51 aB	0,00 aB
Vermelha	1,66 aA	1,51 aA	1,87 aA	0,46 aB	0,00 aB
Azul	1,10 aA	0,83 aB	0,78 aB	0,11 aB	0,00 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

As plântulas submetidas à cor azul em 56 e 84 dias após a inoculação apresentaram as menores alturas, em relação às plântulas submetidas a outros espectros de cor (Tabela 13). Assim como observado para o número de folhas, as plântulas de todos os tratamentos apresentaram uma redução abrupta na altura, aos

112 dias após a inoculação e não houve plântulas vivas com 140 dias após a inoculação (Tabela 13).

Tabela 13. Altura (cm) de plântulas de morangueiro cv. Camarosa acondicionadas em bandejas contendo substrato e aclimatizadas por 21 dias em estufa, submetidas anteriormente a diferentes tratamentos de cores na micropropagação, em dias após a inoculação (DAI).

Tratamentos	DAI				
	28	56	84	112	140
Branca	3,46 aA*	3,45 aA	2,21 bA	0,00 aB	0,00 aB
Mista	4,48 aA	4,70 aA	3,66 bA	0,35 aA	0,00 aB
Vermelha	3,87 aA	4,27 aA	4,43 aA	0,52 aB	0,00 aB
Azul	2,87 aA	0,98 bB	1,12 bB	0,12 aB	0,00 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

5. DISCUSSÃO

Na cadeia de produção do morangueiro, a formação das mudas representa uma importante atividade econômica, responsável por 45% do custo fixo, uma vez que o campo de produção necessita ser renovado anualmente (AGRIANUAL, 2003). A implantação de campos de produção com mudas livres de doenças auxilia os produtores a reduzirem o uso de defensivos químicos, o que acarreta no aumento da produção e melhoria da qualidade da fruta (BRAHM e OLIVEIRA, 2004). As mudas livres de patógenos são produzidas em laboratórios, a partir de matrizes provenientes da cultura de meristemas. Diversos protocolos de micropropagação recomendam utilizar material de até quatro subcultivos, para preservar a identidade genética dos clones e manter alta taxa de multiplicação (CALVETE et al., 2009). Os períodos de incubação entre os subcultivos, para a maioria das espécies, comumente são de quatro semanas, podendo se expandir para até dez vezes (MANTELL et al., 1994). Embora a maioria dos laboratórios utilize, para obter segurança em relação à identidade genética das mudas, protocolos de micropropagação com quatro ou cinco subcultivos, as maiores taxas de multiplicação *in vitro* em morangueiro são obtidas com no máximo de dois a três subcultivos (CALVETE et al., 2009). No experimento, avaliou-se plântulas de morangueiro com apenas um subcultivo de intervalo de tempo de 28, 56, 84, 112 e 140 dias, sob diferentes espectros de luz com o uso de LEDs.

Entre os componentes presentes no ambiente, a luz é o principal para o crescimento das plantas, pois além de fornecer energia para o processo fotossintético, também fornece sinais que regulam o seu desenvolvimento por meio de receptores sensíveis a diferentes intensidades de luz e qualidade espectral (REGO e POSSAMAI, 2006). Portanto, modificações na luminosidade na qual uma espécie está adaptada, podem acarretar em diferentes respostas fisiológicas em suas características bioquímicas, anatômicas e de crescimento (ATROCH et al., 2001).

A utilização de LEDs em cultivo *in vitro* tem como finalidade de estimular ou inibir a fotossíntese nas plantas através da emissão de um espectro eletromagnético específico e assim gerar respostas na qualidade das plantas propagadas (ALMEIDA, 2014). O desenvolvimento das plantas pode ser influenciado pelos espectros de luz azul e vermelha (LAZZARINI et al., 2017). No experimento *in vitro* com morangueiro

cv. Camarosa, com até 140 dias de subcultivo, as plântulas sob a luz azul apresentaram menor altura, massa fresca, número de brotos, comprimento de raiz, diâmetro do caule e número de raízes, em relação ao tratamento com luz vermelha ou a luz mista (70% vermelha e 30% azul). Resultados semelhantes foram observados com plântulas de Heliconia (RODRIGUES et al., 2018). Para essa espécie, a luz vermelha manteve o processo de crescimento das plântulas e o uso de luz azul sob a conservação *in vitro* reduziu o seu desenvolvimento.

O número de brotações não diferiu entre os tratamentos de luz, variando entre 1,0 e 2,2 brotos por plântula. Esse resultado foi similar ao encontrado por Rocha et al. (2010), em que, sem a utilização de BAP (6-benzilaminopurina) no meio de cultura, obteve valores entre 1,0 e 2,4 brotos por plântula. O mesmo resultado foi observado em cultivares de videiras sob diferentes fontes de luz (POUDEL et al., 2008). Em bananeiras, entretanto, a utilização de LEDs de cor vermelha contribuiu para o aumento número de brotações em determinados cultivares (ROCHA et al., 2017). Do mesmo modo, sob LEDs de cor vermelha, diferentes cultivares de framboeseiras apresentaram respostas diferentes quanto ao número de brotações formadas por plântulas (ROCHA et al., 2013). Portanto, o efeito de diferentes fontes de luz sobre a brotação varia entre espécies e entre cultivares de uma espécie. No caso de plântulas de morangueiro da cv. Camarosa, os LEDs de cor vermelha, azul e mista produziram o mesmo número de brotos que a cor branca.

Em relação aos pigmentos fotossintéticos, a quantidade de clorofila a, clorofila b e carotenoides presentes nas folhas de morangueiro da cultivar Camarosa, não apresentaram variações em seus teores em função do espectro de luz que as plântulas foram submetidas em cada intervalo de tempo de conservação. Entretanto, para a clorofila a ocorreu uma redução de seu teor ao longo dos intervalos de tempo de conservação para cada um dos tratamentos de luz utilizados, com exceção ao tratamento com LED azul, em que a quantidade de clorofila a se manteve baixa e constante ao longo das avaliações. Para a clorofila b em plântulas de morangueiros sob LED de cor vermelha foi constante entre os intervalos de tempo de conservação, reduzindo nos demais tratamentos de luz. Quanto ao teor de carotenoides, apenas as folhas de plântulas de morangueiro sob a luz branca mantiveram o teor ao longo dos intervalos de tempo de conservação. Nas demais cores, as plântulas apresentaram uma redução no teor de carotenoides entre os intervalos de tempo de conservação. Esses resultados foram diferentes aos

observados por Rocha et al. (2010), em que morangueiros *in vitro*, apresentaram maiores quantidades de clorofila a e b e de carotenoides sob LEDs de cor vermelha. Essa diferença entre os resultados com plântulas de morangueiro pode estar relacionada ao método aplicado em cada trabalho. No presente experimento, avaliou-se diferentes períodos de conservação sob os diferentes espectros de luz, ou seja, não ocorreu subcultivos e as plântulas permaneceram sob as diferentes cores ao longo dos intervalos de tempo. No experimento de Rocha et al. (2010) foram realizados três subcultivos, o que pode ter contribuído para a adaptação das plântulas nos diferentes espectros de luz, resultando em diferenças nos teores de pigmentos fotossintéticos. Em experimento com cana-de-açúcar, contudo, o tratamento com luz vermelha apresentou menor quantidade de clorofila a e b (MALUTA et al., 2013). Os autores sugerem que essa resposta deve-se ao desmanche dos tilacóides nos cloroplastos, que levou a um mecanismo de compensação pela qualidade de luz incidente, que ocorre quando a intensidade de luz excede a capacidade fotossintética da planta. Em mirtilo (*Vacchinium Corymbosum*), a luz azul estimulou altos níveis de clorofilas nas folhas, enquanto que sob a luz vermelha ocorreu a inibição do acúmulo de clorofila (HUNG et al., 2016).

No processo de fotossíntese, os pigmentos fotossintéticos clorofila a e b, são responsáveis pela absorção e envio da energia luminosa para os centros de reação, e os carotenoides (pigmentos acessórios), atuam como fotoprotetores, sendo fundamentais na multiplicação celular e no crescimento das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2004). Portanto, as avaliações dos teores de clorofila e carotenoides em folhas são realizadas para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua relação direta com a absorção e transferência de energia luminosa e ao crescimento e à adaptação a diversos ambientes. Plantas com alto teor de clorofila são capazes de atingir taxas fotossintéticas mais altas, pelo seu valor potencial de captação de “quanta” na unidade de tempo (CHAPPELLE e KIM, 1992).

Após 21 dias de aclimatização em estufa, as plântulas submetidas aos diferentes tratamentos de luz e intervalos de conservação *in vitro*, apresentaram respostas diferentes. As plântulas de morangueiro micropropagadas sob a luz mista, obtiveram uma sobrevivência de 100% das plantas com três meses *in vitro*. A partir do quarto intervalo de tempo, foi observada uma condição avançada de senescência na parte aérea das plantas e nas raízes, resultando na perda de material durante o

processo de aclimatização. A luz azul, a partir dos resultados apresentados, em relação às avaliações ao número de folhas, diâmetro do caule e altura da planta mesmo na aclimatização, continuou retardando o crescimento das plantas. A possível causa para a baixa taxa de sobrevivência das plantas aclimatizadas pode ser atribuída à mudança drástica que a planta sofre ao mudar de ambiente de cultivo, sofrendo estresse hídrico e a redução na capacidade fotossintética (BRAINERD e FUCHIGAMI et al., 1981).

O número de folhas avaliadas nas plantas aclimatizadas apresentou uma diferença nas plantas sob LEDs branca, mista e vermelha, com uma quantidade maior, comparando as plantas sob LED azul. Observou-se que, à medida que aumentaram os dias entre os intervalos de tempo, a quantidade do número de folhas nas plantas diminuiu. Foi observado em um experimento com plantas de Tango (*Solidago canadenses* L.) sob o uso de lâmpadas de luz (LEDs) no controle do florescimento em ambiente protegido, no tratamento de luz vermelha, onde as variáveis avaliadas foram: o número de folhas, que não tiveram grandes diferenças nos resultados, os valores mínimos do número de folhas foram de 39 e o máximo 45, e também o diâmetro do caule não obteve diferenças, assim sendo, mostra que as variáveis avaliadas não sofreram interferência das lâmpadas de LEDs (ASSIS, 2015).

O diâmetro do caule não teve diferença nas plantas aclimatizadas, entretanto, as plantas, a partir do segundo intervalo de tempo, apresentaram valores de maiores alturas nos tratamentos com cor mista e vermelha, pois assim como no cultivo *in vitro* a luz vermelha induziu o crescimento das plântulas, na aclimatização a luz vermelha continuou acelerando o desenvolvimento da planta.

De acordo com os resultados obtidos no presente experimento, o desenvolvimento das plantas é influenciado pelo espectro de luz proporcionado pelos LEDs, como a luz azul e luz vermelha, em que a absorção pelas plantas emitidas por esses comprimentos de ondas gira em torno de 90% da luz emitida. O espectro de luz azul está envolvido em alguns processos fisiológicos da planta, como a abertura do estômato, fototropismo, morfogênese e funcionamento fotossintético das folhas (WHITELAM e HALLIDAY, 2007), além de exercer uma influência nos cloroplastos nas células e na síntese de clorofila (RICHTER e WESSEL, 1985). Quando as clorofilas absorvem a luz azul ocorre um estado energético maior do que em relação à luz vermelha, pois na luz azul existe uma

maior energia. Essa energia de excitação da molécula de clorofila pode ser perdida na forma de calor ou até mesmo causar danos no aparato fotossintético (TAIZ e ZEIGER, 2013). A luz vermelha, devido o seu comprimento de onda ser próxima do pico de absorção de clorofila, é eficientemente absorvida pelos pigmentos presentes nas plantas (LAZZARINI et al., 2017). A luz vermelha tem uma grande influência na fotomorfogenese, o fitocromo é o fotorreceptor responsável pela absorção desse espectro. Ele pode ocorrer em duas formas, uma que absorve a luz vermelho distante e a outra que absorve a luz vermelha, com isso os espectros de absorção dessas duas formas sobrepõem-se na região espectral do vermelho, havendo assim um equilíbrio (TAIZ e ZEIGER, 2013). Esses fatores podem justificar a inibição e o adiantamento do desenvolvimento de plântulas de morangueiro cv. Camarosa *in vitro* sob os diodos emissores de luz (LEDs) azul e vermelha, respectivamente.

6. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos e para as condições analisadas conclui-se que a luz azul utilizada no cultivo *in vitro* reduz o desenvolvimento das plântulas de morangueiro.

A luz vermelha e a luz mista (70% vermelha e 30% azul) aceleram o desenvolvimento das plântulas de morangueiro quando comparadas com a luz branca, normalmente utilizada na conservação *in vitro* em laboratórios.

Plântulas de morangueiro sob LEDs na cor vermelha e mista podem permanecer por até três meses sem subcultivos, obtendo sucesso na formação de mudas após a aclimatização por 21 dias.

E a quantidade de clorofila a, clorofila b e carotenoides presentes nas folhas de morangueiro da cultivar Camarosa, não apresentaram variações em seus teores em função do espectro de luz que as plântulas foram submetidas em cada intervalo de tempo de conservação.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL, 2003. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & AgroInformativos, 544p. 2004.

ALMEIDA, C. Sistema eletrônico em diodos emissores de luz (LEDs) para aplicação em estudos de fisiologia vegetal. **Dissertação de mestrado**. Juiz de Fora. Universidade de Juiz de Fora. 2014.

ANTUNES, L.E.C.; VIGNOLO, G.K.; GONÇALVES, M.A. Morango mostra tendência de crescimento de mercado. In: **CAMPO & NEGÓCIOS**, Anuário HF p.54-57. 2014.

ASSIS, F. N.; MENDEZ, M.E.G. Relação entre radiação fotossinteticamente ativa e radiação global. **Pesq. Agrop. Bras.,** Brasília, v. 24, n. 7, p. 797- 800, jul. 1998.

ASSIS, T. Uso de lâmpadas de diodo de emissor de luz 'LED' no controle do florescimento em plantas de Tango (*Solidago canadenses* L.) e Hipérico (*Hypericum inodorum*). **Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa.** 2015.

ATROCH, E. M. A. C; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A. de; CASTRO, E. M, de. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forticata* submetidas à diferentes condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 4, p. 853–862, 2001.

BARGHINI, A. Influência da Radiação Artificial sobre a Vida Silvestre: técnicas paraminimizar os impactos, com especial enfoque sobre os insetos. 243 p. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BARROS, A.C.B.; COSTA, D.A.; MEDEIROS, E.C. Biorreator de imersão temporária aplicado na biofábrica de cana-de-açúcar. In: GERALD, L.T.S. (Ed.). **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro*.** São Paulo: Antiqua, p.52-71, 2011.

BETTI, J. A. Obtenção de material propagativo vegetal testado livre de vírus. In: CROCOMO, O.J.; SHARP, W.R.; MELO, M. Biotecnologia para produção vegetal. Piracicaba: **Centro de Biotecnologia Agrícola**- Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiróz, 1991. p. 145-170.

BETTI, J. A.; COSTA, A. S.; PASSOS, F. A. Indexação de viroses de germoplasma de morangueiro introduzido no Instituto Agronômico de 1983-1989. **Summa Phytopathologica**, v. 18, n. 1, p. 45, 1992. Resumo 70.

BRAHM, R. U.;.OLIVEIRA, R. P. Potencial de multiplicação *in vitro* de cultivares de morangueiro. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 26, n. 3, p. 507-510, 2004.

BRAINERD, K. E.; FUCHIGAMI, L. H. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v. 106, n. 4, p. 515-518, 1981.

BRITO, L. A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; ALVIM, B. F. M.; RESENDE. S. V.; BELLINTANI. M. C.; SANTANA, J. R. F. Agentes osmóticos e temperatura na conservação in vitro de sempre-viva. **Ciência Rural**. Vol. 41. N°8. Santa Maria Aug. 2011.

CALVETE, E. O.; GRANDO, M. F.; GOMIDE, D. G.; MARAN, R. E.; SUZIN, M.; NIENOW, A. A.; CECCHETTI, D. Desempenho *in vitro* e agronômico de cultivares micropropagadas de morangueiro em vários subcultivos. **Rev. Bras. Frutic.** v. 31, n. 4, p. 943-949, 2009.

CALVETE, E. O.; KÄMPF, A. N.; DAUDT, R. ; FERMINO, M. H. Efeito do substrato na aclimatização de *ex vitro* de morangueiro cv. Campinas, Fragaria x *ananassa Duch*. In: KÄMPF, A. N. (Eds.). **Substrato para plantas: a base da produção vegetal em recipientes.** Porto Alegre: Gênesis, p. 257-264. 2000.

CALVETE, E. O.; ROCHA, H. C.; ANTUNES, O. T.; NIENOW, A. A. **Morangueiro polinizado pela abelha jataí em ambiente protegido.** Passo Fundo: UPF, p.53, 2005.

CAMARGO, L. de S.; PASSOS, F. A. Morango. In: FURLANI, A. M. C.; VIÉGAS, G. P. O melhoramento genético de plantas. Campinas: **Instituto Agronômico**, v. 1, p. 411-432, 1993.

CANTO, A. M. M. E.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; CABRAL, J. R. S. Implicações do paclobutrazol no crescimento *in vitro* de plantas de abacaxi na conservação de germoplasma. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasilia, v. 2004, n. 40, p. 717-720, 2004.

CARRIJO, O. A.; VIDAL, M. C.; REIS, N. V. B. DOS; SOUZA, R. B. DE; MAKISHIMA, N. Produtividade do tomateiro em diferentes substratos e modelos de casas de vegetação. **Hort. Bras.**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 05-09 jan./mar. 2004.

CARVALHO, V.; SANTOS, D. S.; NIEVOLA, C. C. *In vitro* storage under slow growth and ex vitro acclimatization of the ornamental bromeliad Acanthoschays strobilace. **South African Journal of Botany,** v. 92, p.39-43, 2014.

CASSELLS, A.; CURRY, R. F. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micopropagators and genetic engineers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 64, p. 145-157, 2001.

CHAKRABARTY, D.; YU, K.W.; PAEK, K.Y. Detection of DNA methylation changes during somatic embryogenesis of Siberian ginseng (Eleuterococcus senticosus). **Plant Science**, Clare, v. 165, n. 1, p. 61 - 68, 2003.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for a remote estimation of the concentractions of clorophyll A, chorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, v. 39, p. 239-247, 1992.

CHARRIER, A., DEREUDDRE, J., ENGELMANN, F. The implications of biotechnology in germplasm conservation and utilization. **Crop Genetic Resources of Africa.** Vol II. N.Q. Ng ,P. Perrino, F. Attere, H. Zedan ed., Ibadan, Nigeria, IITA/IBPGR/UNEP/CNR, In: PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL CONFERENCE ON CROP GENETIC RESOURCES OF AFRICA. pp. 279-286, 1991.

CORREIA, K. G.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. **Rev. Bio. e Ciênc. da Terra**, v. 4, n.2, p.7, 2004.

DARNEL, R. L.; CANTLIFFE, D. J.; KIRSCHBAUM, D. S.; CHANDLER, C. K. The physiology of flowering in strawberry. **Horticultural Reviwers**, v. 28, p. 325-349, 2003.

DODDS, J. H.; ROBERTS, L. W. **Experiments in plant tissue culture**. 2. ed. Cambridge, Estados Unidos: Cambridge University Press, p. 172-179, 1993.

DUONG, T.N. et al. Growth of banana plantlets cultured in vitro under red and blue light-emitting diode (LED) irradiation source. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.575, p.117-124, 2002.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. Brasília: Embrapa. 1993.

EMBRAPA. **Manual de Curadores de Germoplasma- Vegetal**: Conservação *in vitro*. 2010.

FERRARI. M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo – PR: Embrapa Florestas, p. 22. (Embrapa Florestas. Documentos, 94). 2004.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliça. Viçosa:UFV, p.402, 2000.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliça. 2 ed. Viçosa: UFV, p. 412, 2003.

FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Batata-semente Pré-básica: Cultura de Tecidos. In: PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. (Eds.). O cultivo da batata na região sul do Brasil. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 421-433. 2003.

GALLETA, G. J.; BRINGHURST, R. S. Strawberry management. In: GALLETA, G. J.; HIMELRICK, D. G. (Eds.). **Small Fruit Crop Management**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, ch. 3, p. 83-156, 1990.

GEORGE, E.F. Plant propagation by tissue culture. Part. 1. **The technology**. 2.ed. Edington, Wilts, London: Exegetics.1574p. 1993.

GRAHAM, J. Fragaria strawberry. In: LITZ, R.E. (Ed). **Biotechnology I of Fruit and Nut Crops**. Chapter: 24, pp 456-474. CABI Publishing, 2005.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação In: TORRES,A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.) Técnicas e Aplicações de Cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCTP: **EMBRAPA** CHPHortaliças. p.99-169, 1998.

GROPPO, G.A.; TESSARIOLI NETO,J.; BLANCO, M.C.S.G. A cultura do morangueiro. 2ed. Campinas: **CATI**. P. 27 (Boletim Técnico, 201).1997.

GUTTRIDGE, C. G. Fragaria x ananassa. In: **CRC Handbook of Flowering**, Vol. III. A.H. Haley (ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida. p.16-33. 1985.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de Biotecnologia-CCA/UFSC**. Ed. Steinmacher. p. 40,. 2006.

HARDING, K.; BENSON, E.E.; CLACHER, K. Plant conservation biotechnology an overview. **Agro-Food-Industry Hi-Tech**, may-june, 1997.

HARTMANN, H. T. et al. Plant propagation: principles and practices. 7th ed. Upper Saddle River, New Jersey: **Prentice Hall**, p.847, 2002.

HUAN, L.V.T.; TANAKA, M. Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm like body formation from callus in Cymbidium orchid. **Environment Control in Biology** 42 (1): 57-64. 2003.

HUNG, C. D. et al. LED light for *in vitro* and *ex vitro* efficient growth of economically importante highbush blueberry (*Vaccinium Corymbosum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum, Krakow**, v. 38, n.6, p. 1-9, 2016.

KAMINSKA, M.; SKRZYPEK, E.; WILMOWIEZ, E.; TRETYN, A.; TRJGELL, A. Effect of light conditions and ABA on cold storage and post-storage propagation of Taraxacum pieninicum. **Plant Cell**, Tissue and Organ Culture 127:25-34. 2016.

KAUR, D.; OGRA, R. K.; BHATTACHARYA, A.; SOOD, A. Changes in sugar levels during slow growth of Dendrocalamus hamiltonii somatic embryos due to liquid paraffin overlay. ***In vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant** 48:120-126. 2012.

KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnología Ciência e Desenvolvimento***,* Brasília, v. 1, n. 1, p. 21 - 43,1997.

KEVERS, C.; FRANK, T.; STRASSER, R.J.; DOMMES, J.; GASPAR, T. Hyperhydricity of micropropagated shoots: a typically stress- induced change of physiological state. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 77:181-191. 2004.

KIRSCHBAUM, DS. Temperature and growth regulator effects on growth and development of strawberry (Fragaria x ananassa Duch.) Florida: University of Florida. **(Tese Mestrado)**, p. 144, 1998.

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. Uso de Diodos Emissores de Luz (LED) na Fisiologia de Plantas Cultivadas- Revisão. **Sci. Agrar**. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 2, abr./jun., p.137-144, 2017.

LIETEN, P. Strawberry production in central Europe. **International Journal of Fruit Science**, v. 5, n. 1, p. 91-105, 2005.

MACEDO, A. F.; LEAL-COSTA, M. V.; TAVARES, E. S.; LAGE, C. L. S.; ESQUIBEL, M. A. The effect of light quality on leaf production and development of *in vitro* cultures plants of Alternanthera brasiliana Kuntze. **Environmental and Experimental Botany** 70:43-50. 2011.

MALUTA, F. A; BORDIGNON, S. R.; ROSSI, M. L; AMBROSANO, G. M. B; RODRIGUES, P. H. V. Cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar exposta a diferentes fontes de luz. **Pesq. Agropec. Bras**. v.48, n.9, Brasília Sept. 2013.

MANAKASEM, Y.; GOODWIN, P.B. Responses of dayneutral and Junebearing strawberries to temperature and daylength.. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 76,p. 629-635, 2001.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; Mc KEE, R.A. Princípios da biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**, p.344, 1994.

MARTINEZ-ESTRADA, E.; CAAMAL-VELAZQUEZ, J. H.; MORALES-RAMOS, V.; BELLO-BELLO, J. J. Light emitting diodes improve *in vitro* shoot multiplication and growth of Anthurium andreanum Lind. **Propagation of Ornamental Plants** 16:3-8. 2016.

MIRANDA, F.; FERNANDES, T. D. **Manual de boas práticas: Morango.** Escola Superior de Biotecnologia, Porto - U.C.P. 31 p. Disponível em: http://www.esb.ucp.pt/twt/disqual/pdfs/disqual_morango.pdf. 2001.

MITHILA, J.; HALL, J. C.; VICTOR, J.M.R.; SAXENA, P.K. Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet(Saintpauliaionantha Wendl.). **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 21, n. 5, p. 408–414, 2003.

NEHRA, S. N.; KARTHA, K. K.; STUSHNOFF, C.; GILES, K. L. Effect of *in vitro* propragation methods on fiels performance of two strawberry cultivars. **Euphytica**, v.76, p. 107-115, 1994.

NICKEL, O; FAJARDO, T.V.M. **Morangueiro**. Cap. 18. Viroses. 483-505p. 2016.

NUNES, T.V.F. Luz para plantas. **Rev. Esp. On-line IPOG,** Goiânia, v. 06 n.1, p.1-17 dez. 2013.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E.E.; SHPIEGE, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, Y. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of P*ittosporum variegatum.* **J. Hort. Sci. Biotech,**n.76, p. 353-361,2001.

OUZOUNIS, T.; FRETTÉ X.; OTTOSEN, C. O.; ROSENQVIST, E. Spectral effects of LEDs on chlorophyll fluorescence and pigmentation in Phalaenopsis ‘Vivien’ and ‘PurpleStar’. **Physiol. Plant**. v. 154 p.314–327. 2015.

PEREIRA, M.C.T., et al. Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira sob diferentes condições de luminosidade. **Rev. Bras. de Frut.,** Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 238-240, ago., 2005.

PIMENTA, M.R.; RIBEIRO, C.; SOARES, C.Q.G.; MENDES, G.C., BRAGA, V.F.; REIS, L.B.; OTONI, W.C.; RESENDE, C.F.; VICCINI, L.F.; PEIXOTO, P.H.P. Ethylene synthesis inhibition effects on oxidative stress and *in vitro* conservation of *Lippia filifolia* (Verbenaceae). **Brazilian Journal of Biology** 73: 617-621. 2013.

PIRES, R. C. M.; FOLEGATTI, M. V.; PASSOS, F. A.; AMBROSANO, G. M. B.; MINAMI, K. Profundidade efetiva do sistema radicular do morangueiro sob diferentes coberturas de solo e níveis de água. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 793-799, abr. 2000.

POUDEL, P.R.; KATAOKA, I.; MOCHIOKA, E R.. Effect of red and blue light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. **Plant Cell**, Tiss. Organ Cult. 92(2), 147-153. 2008.

REISSER JÚNIOR, C.; ANTUNES, L. E. C.; ALGRIGHI, M.; VIGNOLO, G. Panorama do cultivo de morangos no Brasil. **Campo e Negócios Hortifruti**, 2015.

REGO, G. M.; POSSAMAI, E. Efeito do Sombreamento sobre o Teor de Clorofila e Crescimento Inicial do Jequitibá-rosa. **Bol. Pesq. Fl.**, n. 53, p.179-194, 2006.

RESENDE, L. M. A.; MASCARENHAS, M. H. T.; PAIVA, B. M. Panorama da produção e comercialização do morango. **Inf. Agrop.** Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 5-19, 1999.

RICHTER, G.; WESSEL, K. Red light inhibits blue light-induced chloroplast development in cultured plant cells at the mRNA level. **Plant Molecular Biology**, Zurich, v.5, n.3, p.175-182, 1985.

ROCHA, P. S. G.; DE OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; DOS SANTOS, U. L. Diodos emissores de luz e concentrações de BAP na multiplicação *in vitro* de morangueiro. **Ciênc. Rur.**, Santa Maria, v.40, n.9, p. 1922-1928, set, 2010.

ROCHA, P. S.G.; DE OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; MO SELE, S. H. Uso de LEDs na multiplicação *in vitro* de três cultivares de bananeira. **Rev. Colomb. de Ciênc. Hort.** Vol. 11. No. 2 – pp. 247-252, julio-diciembre. 2017.

ROCHA, P. S.; DE OLIVEIRA, R.P.; SCIVITTARO, W. B. Uso de LEDs na multiplicação e enraizamento *in vitro* de framboeseiras. **Pesq. Agrop**. **Gaúcha**. Porto Alegre, v.19, n.1/2, p.98-105, 2013.

ROCHA, P.S.G.; OLIVEIRA, R.P.; SCIVITARRO, W.B. New light sources for *in vitro* potato micropropagation. **Biosci. J.** 31(5), 1312-1318. 2015.

RODRIGUES, P. H. V.; ARRUDA, F.; FORTI, V. A. Slow-grown *in vitro* conservation of *Heliconia champneiana* cv. Splash under different light spectra. **Scient. Agric.** v.75, n.2, p.163-166, March/April 2018.

RONQUE, E.R.V. **Cultura do morangueiro: revisão prática**. Curitiba: EMATER/PR., Cap. 1-2,p. 206, 1998.

SALOMÃO, A. N.; EIRA, M.T.S.; DA CUNHA, R.; SANTOS, I.R.I.; MUNDIM, R.C.; REIS, R.B. Padrões de germinação e comportamento para fins de conservação de sementes de espécies autóctones: madeireiras, alimentícias, medicinais e ornamentais. (**Embrapa** - Cenargen. Comunicado técnico, 23) p.12, 1997.

SAMUOLIENE, G.; BRAZAITYTÉ, A.; URBANAVICIUTE, G.; DUCHOVSKIS, P. The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries. **Zemdirbyste Agriculture.** v. 97, n. 2. P. 99-104, 2010.

SANTOS, A. M.; MEDEIROS, A.R.M. Morango Produção. 1 ed. Brasília: **Embrapa** Informação Tecnológica, p.81, 2003.

SANTOS, C.C.C.; RODRIGUES, P.H.V. Variação somaclonal em mudas micropropagadas de bananeira**, Cult. Pacovan. Bragantia**, Campinas, v.63, n.2, p.201-205, 2004.

SERÇE, S.; HANCOCK, J. F. The temperature and photoperiod regulation of flowering and runnering in the strawberries, *Fragaria chiloensis, F. virginiana* and *F.x ananassa*. **Scientia Horticulturae**, v. 103, p.167-177, 2005.

SILVA, A. F.; DIAS, M. S. C.; MARO, L. A. C. Botânica e fisiologia do morangueiro. **Inf. Agrop.**, Belo Horizonte, v. 28, n. 236, p. 7-13, jan./fev. 2007.

SILVEIRA, E. B. et al. Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro. **Hort. Bras.**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 211-216, jun. 2002.

SINGH, A.; SYNDOR, A.; DEKA, B. C.; SINGH, R. K.; PATEL, R. K. The effect of microclimate inside low tunnels on off-season production of strawberry (*Fragaria xananassa* Duch.). **Scientia Horticulturae**, v. 144, p. 36-41, 2012.

SON, K. H.; OH, M. M. Leaf Shape, Growth, and Antioxidant Phenolic Compounds of Two Lettuce Cultivars Grown under Various Combinatiions of Blue and Red Light-emitting Diodes. **HortScience**.v. 48, n. 8 p. 988-995, 2013.

SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; SILVA NETO, PEREIRA, H. Aclimatização. In: SOUZA, A. da S.; JUNHANS, T. G.. (Org.). Introdução a micropropagação de plantas. Cruz das Almas: **EMBRAPA** Mandioca e Fruticultura Tropical, v. 1, p. 131-140. 2006.

SLACK, S. A. Pathogen-free plants by meristem-tip culture. **Plant Disease**, v. 64, n. 1, p. 14-17, 1980.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** Porto Alegre: Artmed, 719p. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed. 918p. 2013

TAKUR, S.; TIWARI, K. L.; JADHAV, S. K. *In vitro* approaches for conservation of Asparagus acemosus Willd. ***In vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant** 51:619-625. 2015.

TAYLOR, D. R. The physiology of flowering in strawberry. **Acta Horticulturae**, v. 567, p. 245–251, 2002.

THAO, N.T.P.; OZAKI, Y.; OKUBO, H. Callus induction and plantlet regeneration in ornamental Alocasia. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Boston, v. 73, n. 3, p. 285 – 289, 2003.

TORRES, C.T.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas. Brasilia: **EMBRAPA** – SPI/Embrapa – CNPH, 1998.

TOWILL, L. E. Germplasm preservation. In: TRIGIANO R.N. e GRAY, D.J. ed. **Plant tissue culture concepts and laboratory exercises**. 2nd. Edition. CRC Press, Boca Raton, p. 337-353, 2000.

VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L.; GOES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; DE MELO, I.S.; VALADARESINGLIS, M.C. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas.** Rodanopolis: Fundação MT, p. 124-147, 2001.

VERDIAL, M. F. Frigoconservação e vernalização de mudas de morangueiro (Fragaria x ananassa Duch) produzida em sistemas de vasos suspensos. 2004. **Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia)**- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz/ USP, Piracicaba, 2004.

VERDIAL, M. F.; NETO, J. T.; MINAMI, K.; SCARPARE, J.A.F.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; SCARPARE, F. V.; KLUGE, R. A. Fisiologia de mudas de morangueiro produzidas em sistema convencional e em vasos suspensos. **Rev. Bras. Frut.**, v. 31, n. 2, p. 524-531, 2009.

VIEIRA, L. D.; FRAGA, H. P. D.; ANJOS, K. G.; PUTTKAMMER, C. C.; SCHERER, R. F.; SILVA, D. A.; GUERRA, M. P. Light-emitting diodes (LED) increase the stomata formation and chlorophyll conten in Musa acuminata (AAA) “Nanicao Corupa’ *in vitro* plantlets. **Theoretical and Experimental Plant Physiology** 27:91-98. 2015.

WENDLING, I.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W. Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais. Viçosa, MG: **Aprenda Fácil**, v. 3, 223 p. 2005.

WILKINS, C. P.; NEWBURY, H. J.; DODDS, J. H. Tissue culture conservation of fruit trees. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Rome, v. 1, n. 73/74, p. 9-20, 1988.

WHITELAM, G.; HALLIDAY, K. **Light and plant development**. Blackwell: Oxford, UK, 2007.

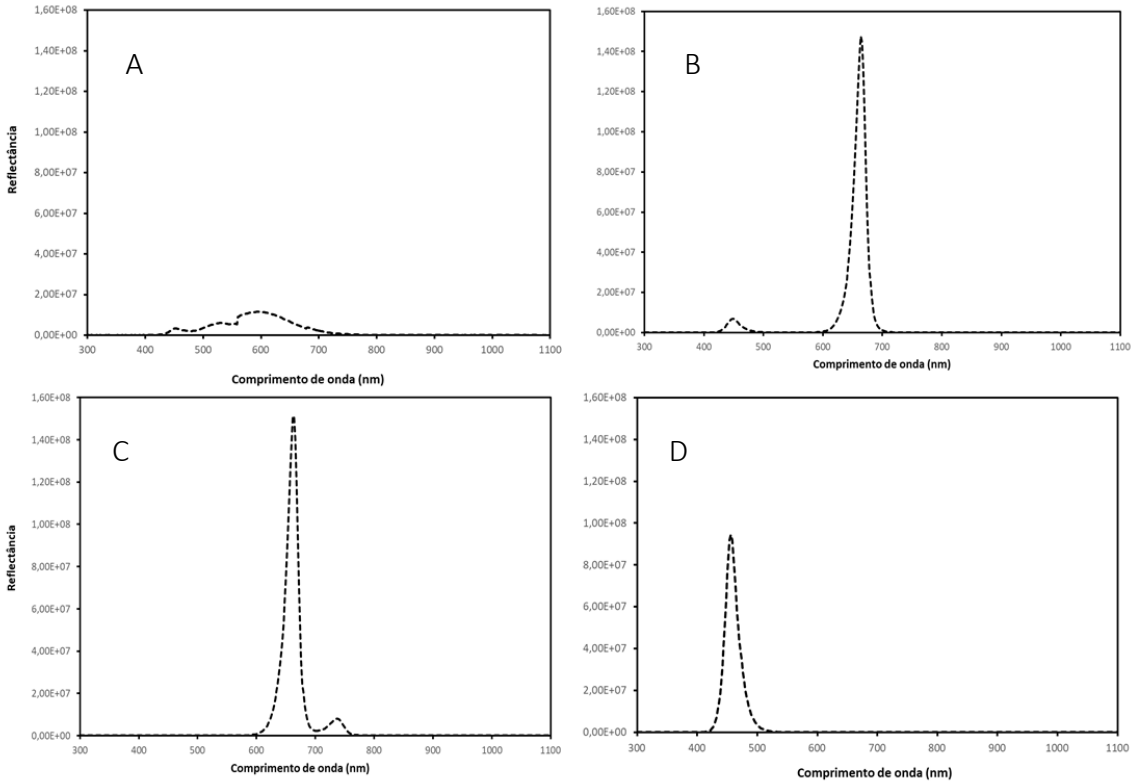
YEH, N.; CHUNG, J.P. High-brightness LEDs - Energy efficient lighting sources and their potential in door plant cultivation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Taiwan, p.1-6, 2009.

ZEE, F. T.; MUNEKATA, M. *In vitro* storage of pineapple (Ananas spp.) germplasm**.** **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 1, p. 57-58, 1992.

ZENG, F.; ZHANG, X.; ZHU, L.; TU, L.; GUO, X.; NIE, Y. Isolation and characterization of genes associated to cotton somatic embryogenesis by suppression subtractive hybridization and macroarray. **Plant Molecular Biology,** Boston, v.60, n. 2, p.167–183, 2006.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of woody plants: post tissue culture aspects. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 227, p. 489-499, 1988.

ANEXOS



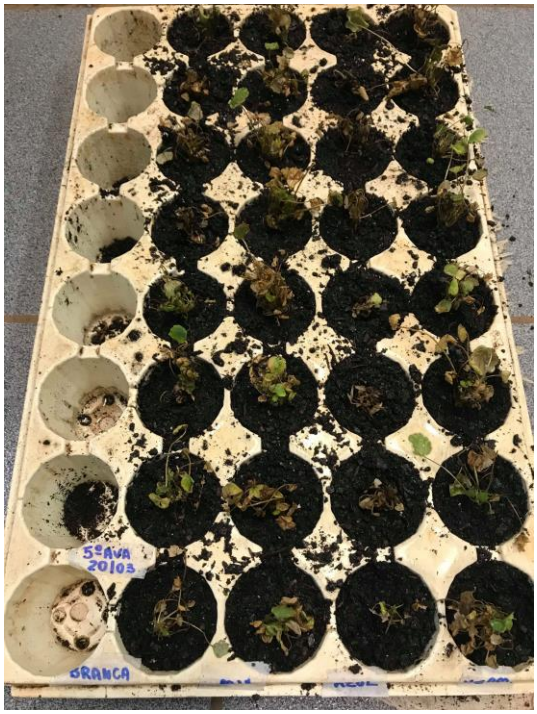
ANEXO A. Caracterização dos espectros de luz emitidos pelas LEDs presentes em cada tratamento. Luz branca (A), mista (B), vermelha(C) e azul (D).

ANEXO B. Plantas aclimatizadas no primeiro intervalo de tempo (28 DAI), da esquerda para a direita plantas sob LEDs branca, mista, vermelha e azul, em uma bandeja com substrato.

ANEXO C. Plantas aclimatizadas no segundo intervalo de tempo (56 DAI), da esquerda para a direita plantas sob LEDs branca, mista, azul e vermelha, em uma bandeja com substrato.

ANEXO D. Plantas aclimatizadas no terceiro intervalo de tempo (84 DAI), da esquerda para a direita plantas sob LEDs branca, mista, vermelha e azul, em uma bandeja com substrato.

ANEXO E. Plantas aclimatizadas no quarto intervalo de tempo (112 DAI), da esquerda para a direita plantas sob LEDs branca, mista, vermelha e azul, em uma bandeja com substrato.



ANEXO F. Plantas aclimatizadas no quinto intervalo de tempo (140 DAI), da esquerda para a direita plantas sob LEDs branca, mista, azul e vermelha, em uma bandeja com substrato.