



JEREMIAS JOSÉ FERREIRA LEITE

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE SERRALHA (*Sonchus oleraceus*
L.) SOB DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA,
INTENSIDADES LUMINOSAS E VENTILAÇÃO NATURAL**

**LAVRAS-MG
2021**

JEREMIAS JOSÉ FERREIRA LEITE

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE SERRALHA (*Sonchus oleraceus* L.) SOB
DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA, INTENSIDADES LUMINOSAS E
VENTILAÇÃO NATURAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto.
Orientador

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Leite, Jeremias José Ferreira.

Propagação *in vitro* de serralha (*Sonchus oleraceus* L.) sob diferentes comprimentos de onda, intensidades luminosas e ventilação natural / Jeremias José Ferreira Leite. - 2021.

71 p. : il.

Orientador(a): José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

Coorientador(a): Suzan Kelly Vilela Bertolucci.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Troca gasosa. 2. Irradiância. 3. Espectro. I. Pinto, José Eduardo Brasil Pereira. II. Bertolucci, Suzan Kelly Vilela. III. Título.

JEREMIAS JOSÉ FERREIRA LEITE

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE SERRALHA (*Sonchus oleraceus* L.) SOB
DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA, INTENSIDADES LUMINOSAS E
VENTILAÇÃO NATURAL**

***IN VITRO* PROPAGATION OF SAWN (*Sonchus oleraceus* L.) UNDER DIFFERENT
WAVE LENGTH, LUMINOUS INTENSITIES AND NATURAL VENTILATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 30 de julho de 2021.

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

UFLA

Dr. Osmar Alves Lameira

EMBRAPA

Dra. Flávia Dioniso Pereira

EPAMIG

Prof. Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto
Orientador

**LAVRAS-MG
2021**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, aos meus pais Almeida e Ozana, e aos meus familiares, que sempre me apoiaram nessa longa jornada.

Ao meu orientador José Eduardo, pela disposição, e por sempre estar disponível para as orientações. À minha coorientadora Suzan, pela disponibilidade do laboratório de fotoquímica e orientações na execução das análises.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, ao CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro no desenvolvimento deste projeto. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Agricultura (DAG) e ao Setor de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, em especial ao Laboratório de Fotoquímica, pela disponibilidade, estrutura e oportunidade.

À Thainá e à Adriane, que sempre me auxiliaram na execução dos experimentos, compartilhando experiências.

Ao Evaldo, Alexandre, Jeferson e Alan, pela ajuda nas análises e nas avaliações. À professora Luciane, pela disponibilização das sementes. Aos meus amigos Aline, Alison e Mariana, que sempre me ajudaram. À Marli, secretária do programa Agronomia/Fitotecnia, pela atenção e disponibilidade. A todos os demais que contribuíram direta e indiretamente na execução do meu projeto.

Muito obrigado!

RESUMO

A Serralha (*Sonchus oleraceus* L.), é uma planta muito conhecida pelas suas propriedades medicinais, fazendo parte da alimentação humana, pelas suas características nutricionais e por apresentar compostos fenólicos em sua composição. Os fatores físicos como intensidade, qualidade de luz e o ambiente de sistema de cultivo influenciam diretamente o crescimento e o metabolismo secundário das muitas plantas medicinais. Objetivou-se avaliar a produção de mudas *in vitro* de *Sonchus oleraceus* sob efeito de intensidades de fluxo de fótons, comprimento de ondas e sistemas de ventilação natural no crescimento, pigmentos fotossintéticos e acúmulo de compostos fenólicos. No experimento de intensidade de luz, os segmentos nodais foram cultivados em meio de cultura MS sob intensidade de 26, 70, 100, 113 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No experimento de qualidade de luz, as plântulas de segmento nodal foram inoculadas em meio MS em sete espectros de luzes LEDs: vermelha; azul; verde; branca; 70% vermelha: 30% azul; 50% vermelha: 50% azul; 30% vermelha: 70% azul. No experimento de sistemas de ventilação natural (SVN), os segmentos nodais com um par de folha, foram cultivados em quatro sistemas de ventilação: sistema convencional (SC), sistema de ventilação com membrana microporosa na tampa com um furo (SVN1), com dois furos (SVN2) e com quatro furos (SVN4), na ausência de sacarose. Os experimentos foram avaliados após 40 dias de cultivo das plântulas sendo avaliados: número de folhas, matéria seca da folha, do caule e da raiz, pigmentos fotossintéticos e teores de compostos fenólicos totais. Plântulas de serralha em altas intensidades produziu maior número de folhas ($> 0,6$ cm) e baixas intensidades de luz produziu maior número de folhas ($< 0,3$ cm). Maiores intensidades de luz proporcionaram maior acúmulo de matéria seca para todas as variáveis analisadas. As intensidades acima de 70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ promoveram maiores taxas fotossintéticas. Os espectros de luz afetaram o ganho de matéria seca das plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro*. O cultivo das plântulas sob a luz branca LED indicou os maiores acúmulos de matéria seca de folha, caule, raiz e total, seguido do espectro de 70%V:30%A. Nos espectros monocromáticos vermelhos e verdes, as plântulas apresentaram uma tendência de estiolamento. A luz verde induziu maiores teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides, seguida pela combinação de 70%V:30%A. As plântulas cultivadas sob a luz branca LED apresentaram os maiores valores para compostos fenólicos. O sistema de ventilação natural com as membranas porosas influencia no crescimento de serralha *in vitro*. No sistema de ventilação com quatro membranas porosa (SVN4), as plântulas obtiveram os maiores valores para número de folha e matéria seca (MSF, MSC, MSR e MST) e também para os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoides). Os teores de compostos fenólicos foram maiores no sistema de ventilação com quatro membranas (SVN4). Desse modo, os resultados apontaram que as plântulas de *Sonchus oleraceus* possui um melhor desenvolvimento nas intensidades entre 70 a 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no espectro de luz branca e no sistema de sistema de ventilação com quatro membranas (SVN4).

Palavras-chave: Troca gasosa. Irradiância. Espectro.

ABSTRACT

Sowthistle (*Sonchus oleraceus L.*) is a plant well known for its medicinal properties, being part of human food, important due to its nutritional characteristics and for presenting phenolic compounds in its composition. Physical factors, such as light intensity, light quality and the growing environment, directly influence the growth and secondary metabolism of the medicinal plants. This work aimed to evaluate the *in vitro* plantlets production of *Sonchus oleraceus* under the effect of photon flux intensities, wavelengths and natural ventilation systems on growth, photosynthetic pigments and accumulation of phenolic compounds. In the light intensity experiment, nodal segments were grown in MS culture medium under intensity of 26, 70, 100, 113 and 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. In the light quality experiment, nodal segment seedlings were inoculated on MS medium under seven LED light spectra: red; blue; green; white; 70% red: 30% blue; 50% red: 50% blue; 30% red: 70% blue. In the natural ventilation systems (SVN) experiment, nodal segments with one pair of leaves were grown in four ventilation systems: conventional system (SC), ventilation system with microporous membrane in the lid with one hole (SVN1), with two holes (SVN2) and four holes (SVN4), in the absence of sucrose. The experiments were evaluated after 40 days of cultivation regarding: number of leaves, leaf, stem and root dry matter, photosynthetic pigments and total phenolic compounds contents. Sowthistle seedlings grown under high light intensities produced greater number of leaves (> 0.6 cm) and low light intensities produced greater number of leaves (< 0.3 cm). Higher light intensities provided greater dry matter accumulation for all variables analyzed. Intensities above 70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ promoted higher photosynthetic rates. The light spectra affected the dry matter gain of *Sonchus oleraceus* seedlings *in vitro*. Plantlets under white LED light indicated the highest leaf, stem, root and total dry matter accumulations followed by the 70%V:30%A spectrum. In the monochromatic red and green spectra the seedlings showed a tendency to stiolate. Green light induced higher chlorophyll *a*, *b*, and carotenoid contents followed by the 70%V:30%A combination. Plantlets grown under white LED light showed the highest values for phenolic compounds. The natural ventilation system with more porous membranes influences the growth of saw palmetto *in vitro*. In the ventilation system with four porous membranes (SVN4), the seedlings achieved the highest values for leaf number and dry matter (SFM, SCM, SRM and TSS) and also for photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids). The contents of phenolic compounds were higher in the four-membrane ventilation system (SVN4). Therefore, the results indicated that the *Sonchus oleraceus* plantlets had a better development at intensities between 70 and 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, in the white light spectra and in the four-membrane ventilation system (SVN4).

Keywords: Gas exchange. Irradiance. Spectrum.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - *Sonchus oleraceus*, cultivada em vaso na casa de vegetação 15

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) oriundas de segmentos nodais cultivados em meio MS em diferentes intensidades de luz (26, 70, 100, 113 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021 34

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) cultivadas em meio MS sob diferentes espectros de luz aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021 49

CAPÍTULO 4

Figura 1 - Esquema feito com fita veda rosca Amanco® e fita microporosa bege Cremer® 60

Figura 2 - Plântulas de Serralha (*Sonchus oleraceus*) oriundas de segmentos nodais cultivados em meio MS em diferentes sistemas de vedação sem sacarose aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021. Seta mostra raízes. 65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 - Número de folhas conforme o tamanho de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes intensidades de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021..... 33
- Tabela 2 - Acúmulo de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* cultivadas por 40 dias sob diferentes intensidades de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021. MSF: matéria seca foliar; MSC: matéria seca do caule; MSR: matéria seca da raiz; MST: matéria seca total..... 34
- Tabela 3 - Concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais (CFT) de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes intensidades de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021..... 36

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 - Quantidade de folhas de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes espectros de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021. 47
- Tabela 2 - Acúmulo de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* cultivadas por 40 dias sob diferentes espectros de luz. MSF: matéria seca foliar; MSC: matéria seca do caule; MSR: matéria seca da raiz; MST: matéria seca total..... 48
- Tabela 3 - Concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais (CFT) de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes espectros de luzes, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021. 50

CAPÍTULO 4

- Tabela 1 - Número de folhas de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes sistemas de ventilação natural (SVN), sistema convencional (SC), com uma membrana (SVN1), com 2 (SVN2) e com 4 (SVN4) aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021. 63
- Tabela 2 - Acúmulo de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* cultivadas por 40 dias sob sistemas de ventilação natural (SVN) e convencional (SC). MSF: matéria seca foliar; MSC: matéria seca do caule; MSR: matéria seca da raiz; MST: matéria seca total..... 64

Tabela 3 - Concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais (CFT) de plântulas de serralha (<i>Sonchus oleraceus</i>) <i>in vitro</i> sob diferentes sistemas de ventilação natural, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021	66
---	----

SUMÁRIO

	CAPÍTULO I INTRODUÇÃO GERAL	13
1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	A cultura da Serralha (<i>sonchus oleraceus</i>).....	15
2.2	Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCS)	16
2.3	Micropropagação.....	17
2.4	Qualidade e intensidade de luz <i>in vitro</i>	18
2.5	Sistemas de vedação	19
2.6	Estresse oxidativo	20
	REFERÊNCIAS	22
	CAPÍTULO 2 INTENSIDADE DE FÓTONS DE LUZ NO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA DE <i>SONCHUS OLERACEUS L.</i>	26
1	INTRODUÇÃO	28
2	MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1	Localização experimental	29
2.2	Germinação e estabelecimento <i>in vitro</i>	29
2.3	Delineamento experimental.....	29
2.4	Variáveis analisadas	30
2.4.1	Avaliações agronômicas	30
2.4.2	Análise de pigmentos fotossintetizantes	30
2.4.3	Análises de compostos fenólicos	31
2.4.3.1	Preparo dos extratos e condições gerais	31
2.4.3.2	Doseamento de compostos fenólicos totais	31
2.5	Análise estatística	32
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1	Análise de crescimento.....	33
4	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39
	CAPÍTULO 3 ESPECTRO DE LUZ NO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA DE <i>SONCHUS OLERACEUS L.</i>	41

1	INTRODUÇÃO	43
2	MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1	Localização experimental	44
2.2	Germinação e estabelecimento <i>in vitro</i>	44
2.3	Delineamento experimental	44
2.4	Variáveis analisadas	45
2.4.1	Avaliações agronômicas	45
2.4.2	Análise de pigmentos fotossintetizantes	45
2.4.3	Análises de compostos fenólicos	46
2.4.3.1	Preparo dos extratos e condições gerais	46
2.4.3.2	Doseamento de compostos fenólicos totais	46
2.5	Análise estatística	46
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1	Análise de crescimento	47
3.2	Análises de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos	49
4	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53
	CAPÍTULO 4 SISTEMAS DE VENTILAÇÃO NATURAL NO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA DE <i>SONCHUS OLERACEUS</i> L.	55
1	INTRODUÇÃO	57
2	MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1	Localização experimental	59
2.2	Germinação e estabelecimento <i>in vitro</i>	59
2.3	Delineamento experimental	59
2.4	Variáveis analisadas	60
2.4.1	Avaliações agronômicas	61
2.4.2	Análise de pigmentos fotossintetizantes	61
2.4.3	Análises de compostos fenólicos	61
2.4.3.1	Preparo dos extratos e condições gerais	61
2.4.3.2	Doseamento de compostos fenólicos totais	62
2.5	Análise estatísticas	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63

3.1	Análise de crescimento.....	63
3.2	Análises de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos.....	65
4	CONCLUSÃO	68
	REFERÊNCIAS	69
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

CAPÍTULO I INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

A planta *Sonchus oleraceus* L. popularmente conhecida como serralha, possui características nutricionais, medicinais e propriedades antioxidantes que as tornam importante mundialmente. Seu consumo e comercialização ainda é limitado por falta de informações nutricionais e medicinais pelas novas gerações (GARCIA-HERRERA *et al.*, 2014).

O estudo *in vitro* de *Sonchus oleraceus* possibilita gerar informações técnicas de seu cultivo, que pode ser utilizado em outras pesquisas, devido a cultura de tecido ser uma forma de propagação de plantas que permite a multiplicação rápida através de um único explante, e possibilita extração de metabólitos secundários (MORAIS *et al.*, 2012).

Sabe-se que fatores ambientais são determinantes para o crescimento e desenvolvimento vegetativo. Ambientes não propícios promovem anomalias nas estruturas morfo-anatômicas, proporcionando alto índice de mortalidade quando os propágulos são levados a campo (ALVAREZ *et al.*, 2012).

A luz é um fator importante na produção de mudas micropropagadas. O comprimento de onda do espectro luminoso pode influenciar na espessura do caule, biomassa total e pigmentos fotossintéticos. A intensidade de fótons de luz é outro fator que influencia diretamente no desenvolvimento de plantas *in vitro*, uma vez que a quantidade de fótons recebida pelos cloroplastos afeta diretamente a fotossíntese. Isto gera consequências diretas no crescimento da planta podendo haver a formação e acúmulo de espécies reativas de oxigênio causando desequilíbrios nas funções fisiológicas (MÜLLER; LI; NIYOGI, 2001; RADMANN *et al.*, 2001).

A utilização de membranas onde ocorrem trocas gasosas do ambiente *in vitro* e *ex vitro*, permite que as plantas desenvolvam mecanismos de adaptação para evitar a perda excessiva de água (CHA-UM *et al.*, 2011; DAMIANI; SCHUCH, 2008). Plantas quando submetidas a fatores físicos são capazes de sofrer adaptações morfológicas como forma de defesa (SALEEM *et al.*, 2021).

Dentro dos metabólitos secundários encontram-se os compostos fenólicos, constituintes antioxidantes que desempenham grande importância na defesa das células contra danos

oxidativos. O sistema de defesa antioxidante possui a função de reduzir ou inibir os danos causados pela ação dos radicais livres (BARBOSA *et al.*, 2010).

O presente estudo teve como objetivo a produção de mudas *in vitro* de *Sonchus oleraceus* sob efeito de intensidades de fluxo de fótons, comprimento de ondas e sistemas de ventilação natural no crescimento, pigmentos fotossintéticos e acúmulo de compostos fenólicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da Serralha (*sonchus oleraceus*)

Figura 1 - *Sonchus oleraceus*, cultivada em vaso na casa de vegetação.



Fonte: Do autor (2021).

A planta (*Sonchus oleraceus*) é popularmente conhecida como serralha, chicória brava, serralha branca, serralha lisa, ciumo, serralheira, serralha lisa, serralha verdadeira, e em alguns países pode também pode ser conhecida como *sowthistle*. É uma espécie herbácea, anual ou bianual, com caule cilíndrico, lactescente, canaliculado, ceríceo e verde com poucas ramificações. Apresentam folhas alternadas e limbo foliar superior ovalado, serradas ou dentadas irregulares, folhas basais recortadas assemelhando-se às folhas compostas. A inflorescência é do tipo cacho de capítulos, o fruto é seco classificado como aquênio, possui coloração branca, e são sedosos e longos (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011).

A *Sonchus oleraceus* é uma planta consumida em várias regiões brasileiras, pertence à família Asteraceae, originária da Europa e bem adaptada ao território nacional devido sua rusticidade. Atualmente, vem crescendo o seu consumo devido ao seu paladar levemente amargo e suas propriedades nutraceuticas (EMBRAPA, 2017). Em algumas cidades brasileiras, a *Sonchus oleraceus* é comercializada em mercados e feiras.

A variedade serralha lisa é tradicionalmente cultivada, possuindo altura variando entre 50 a 110 cm. É uma planta que prefere solos arenosos, bem drenados com boa matéria orgânica e um pH entre 5,5 a 6,5. Sua propagação é feita exclusivamente por sementes, atingindo melhor desenvolvimento em regiões de clima ameno com baixas temperaturas e dias curtos (MAPA, 2010).

A *Sonchus oleraceus* também apresenta características alelopáticas, os extratos de seus brotos secos têm efeito de inibir algumas plantas daninhas, podendo, em alguns casos, afetar totalmente ou parcialmente a germinação e o crescimento das mesmas (GOMAA *et al.*, 2014).

Apesar dos seus benefícios, a *Sonchus oleraceus* é considerada uma erva invasora de culturas anuais e perenes, causando prejuízos para muitos agricultores. Em um levantamento fitossociológico de plantas daninhas, a serralha foi considerada como uma das principais encontradas em culturas anuais (GAZOLA *et al.*, 2018). Na Austrália, por exemplo, devido sua dispersão de sementes serem facilitada pelo vento, o prejuízo na produção de plantas cultivadas vem aumentando (MANALIL; ALI; CHAUHAN, 2019). Além disso, a resistência adquirida a vários grupos de herbicidas têm ajudado a *Sonchus oleraceus* a se tornar uma das principais plantas daninhas no cultivo de feijão nesse mesmo país (MOBLI; MATLOOB; CHAUHAN, 2019).

2.2 Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCS)

Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) são espécies de plantas com desenvolvimento espontâneo, consideradas por muitos como erva daninha, que não fazem parte dos hábitos alimentares, mas podem ser consumidas pelo seu potencial alimentício, e muitas delas desconhecidas por grande parte da população (BASSO, 2020). Os estudos das PANCS começaram expressivamente a partir do ano de 2013, com a descoberta da sua importância econômica, características nutricionais encontradas e pelo fácil acesso pelas populações (PAULA; AMARAL, 2021).

A *Sonchus oleraceus* é uma planta comestível silvestre que pode ser consumida como uma fonte de antioxidante natural recomendada na inclusão de dietas para o bem-estar e proteção da saúde humana (ALPINAR *et al.*, 2009). Considerada uma PANC por ser uma planta pouco conhecida, mas faz parte da alimentação de vários países do mundo, apresentando uma composição média de elementos minerais a cada 100g da planta: energia 127 kJ, umidade (g)

88,2; gordura (g) 0,30; proteínas (g) 2,19; fibra (g) 4,38; cinza (g) 2,04; Na (mg) 150; K (mg) 574; Ca (mg) 164; Mg (mg) 33.7; Cu (mg) 0.05; Fe (mg) 0,88; Mn (mg) 0,46; Zn (mg) 0,59 (GARCIA-HERRERA *et al.*, 2014).

É consumida na África do Sul pela população, por ser rica em amido. Suas flores são consumidas *in natura* na salada e suas folhas são cortadas e cozidas pura ou com legumes (BVENURA; AFOLAYAN, 2014). A *Sonchus oleraceus* é consumida em algumas regiões da Itália central, considerada uma planta silvestre onde se é explorada na nutrição humana (GUARRERA; MANZI, 2005). Na Croácia, ao redor do lago Vrana, a *Sonchus oleraceus* é uma planta consumida de forma cozida, e considerada um alimento importante na suplementação para adultos e crianças, principalmente no período de escassez de alimento (ŁUCZAJ; FRESSEL; PERKOVIĆ, 2013).

Também é considerada uma planta medicinal por ser um alimento rico em antioxidantes naturais, podendo ser facilmente introduzida na dieta (ALPINAR *et al.*, 2009). Estudos comprovam que extratos de *Sonchus oleraceus* possuem efeitos anti-inflamatórios tanto *in vitro* como *in vivo*, portanto, podem ser desenvolvidas várias estratégias farmacológicas no combate às doenças inflamatórias (LI *et al.*, 2017).

A *Sonchus oleraceus* possui um grande potencial de uso em antioxidantes naturais, seguros e saudáveis, pois o extrato de suas folhas contém compostos fenólicos, representando uma excelente fonte de flavonoides, minerais, antocianina e fenólicos e alta quantidade de atividade antioxidante (MORALES *et al.*, 2014 e AL JUHAIMI *et al.*, 2017).

Extratos das folhas de *Sonchus oleraceus* é indicada como estomacal, para prevenção de doenças cardiovasculares, tônico, e no combate à hepatite e células tumorais, por esse motivo, e muito utilizada na medicina popular da China e do Brasil. Diante disso, a *Sonchus oleraceus* pode ser usada para desenvolver novos fármacos antitumorais que podem ser utilizados no tratamento contra o câncer (AGRA *et al.*, 2007; HUYAN *et al.*, 2016).

2.3 Micropropagação

A micropropagação de plantas é uma técnica de propagação de espécies vegetais muito utilizada, principalmente em espécies de difícil propagação, devido ser uma propagação clonal rápida de mudas em larga escala. Esse método de propagação permite a criação de plantas, órgãos, tecidos ou células inteiras em condições controladas em laboratório, livre de qualquer

contaminação microbiana a partir de uma parte da planta conhecido como explante (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006).

Na técnica de micropropagação, todos os nutrientes, sacarose e água são fornecidos em meio de cultura, submetidos em salas de crescimento com iluminação controlada, sendo os mesmos essenciais para o crescimento do explante utilizado. O desenvolvimento do explante pode então, ser manipulado pela adição de reguladores de crescimento da planta (fitohormônios naturais ou versões sintéticas) em estágios específicos de crescimento ou maturação (PHILLIPS; GARDA, 2019).

No que diz respeito às vantagens, o uso de plantas micropropagadas tem como possibilidades obter várias plantas oriundas de um único explante inicial, em um espaço curto de tempo comparado aos métodos de propagação tradicionais (estaquia, enxertia etc), independentemente das condições climáticas (ERIG; SCHUCH, 2005).

2.4 Qualidade e intensidade de luz *in vitro*

A luz é muito importante para garantir a vida na Terra, as plantas utilizam a luz do Sol para realizar fotossíntese e sintetizar compostos carbonados complexos (TAIZ *et al.*, 2017). Na cultura de tecidos utiliza-se lâmpadas de LED e fluorescente em salas de crescimento para fornecer luz necessária para as plantas (ROCHA *et al.*, 2017).

As plantas são organismos fotoautotróficos oxigenados, necessitam de luz para realizar fotossíntese, mas, em excesso de fótons, podem formar espécies reativas de oxigênio afetando a produção de subprodutos da fotossíntese. Dependendo da intensidade de fótons pode causar até a morte dos pigmentos da folha. Um mecanismo de defesa utilizado pelas plantas em ambientes com alta intensidade luminosa são ajustes no movimento dos ângulos da folha ou no tamanho da antena de pigmento que absorve a luz (MÜLLER; LI; NIYOGI, 2001).

O cultivo sob diferentes comprimentos espectrais de luz pode influenciar significativamente no desenvolvimento de diversas plantas. Em explante de cana-de-açúcar submetidas em espectro de luz vermelha, houve redução do porte das plantas, observando desmanche de tilacóides nos cloroplastos. Esse efeito pode ser observado apenas com altas intensidades de luz vermelha (MALUTA *et al.*, 2013).

Plantas de framboesa têm uma maior taxa de multiplicação na luz verde e uma maior quantidade de brotações médias na luz vermelha, porém, a luz vermelha altera a morfologia das

plantas ocorrendo o alongamento dos internódios, menor expansão das folhas e brotações finas (ERIG; SCHUCH, 2005). O uso de diversas combinações na qualidade de luz pode ser uma estratégia adotada para melhorar as características agrônômicas das plantas, influenciando nos teores de metabólitos secundários (QIAN *et al.*, 2016).

A qualidade e intensidade de luzes influenciam diretamente no desenvolvimento de *Lippia gracilis Schauer in vitro*, apresentando melhor crescimento em intensidades mais baixas. Em intensidade luminosa baixa, as plantas apresentam maior porte devido ao estiolamento afetando na biomassa e comprimento da planta, tanto em segmentos nodais, quanto apicais (LAZZARINI *et al.*, 2018).

As plantas podem sofrer alterações anatômicas, quando submetidas à altas intensidades luminosas, como também podem apresentar caules mais finos e flexíveis se forem cultivados em ambientes com baixa densidade de fluxo luminoso. Na propagação *in vitro* de plantas, recomenda-se intensidades indicadas para a cultura, em busca de produzir plantas mais vigorosas (RADMANN *et al.*, 2001).

Cada planta necessita de uma quantidade de fótons de luz específica *in vitro*, a utilização de intensidades de fótons de luz ocorre para conhecer a intensidade luminosa ideal para a cultura em que se estuda. Além dos aspectos de crescimento, o comprimento de onda e a intensidade luminosa no cultivo de plantas *in vitro*, alteram os teores de fitoquímicos e pigmentos fotossintéticos (HSIE *et al.*, 2019).

2.5 Sistemas de vedação

A cultura de tecidos é uma técnica muito eficaz na propagação de plantas em pouco espaço de tempo, mas em cultivo convencional apresenta limitações no momento da aclimatização, devido as mudanças nas características fisiológicas e anatômicas das plântulas. As plântulas providas desse cultivo não resistem a estresses em ambiente *ex vitro*, apresentando alto índice de mortalidade (ALVAREZ *et al.*, 2012).

O alto índice de mortalidade pode ser explicado devido ao acúmulo de etileno e baixas concentrações de CO₂ no interior do frasco *in vitro* das plântulas; uma alternativa utilizada é o uso de sistema de ventilação que ocorre a troca gasosa entre o ambiente *in vitro* e *ex vitro*. Esses sistemas de ventilação reduzem a quantidade de etileno e aumentam as concentrações de CO₂ no interior do cultivo *in vitro* (ZOBAYED; ARMSTRONG; ARMSTRONG, 2002).

No cultivo *in vitro* convencional, a planta é colocada em tubos ou frascos contendo ágar ou agentes gelificantes com nutrientes, sacarose como fonte de carbono para o explante e fótons de luz em salas de crescimento com temperatura controlada. O cultivo de plantas fotoautotrófico *in vitro* é promovido devido a presença de altas concentrações de CO₂ no ambiente *in vitro*; utilizando sistema de ventilação para diminuir o teor de umidade relativa no interior das plantas sem sacarose no meio, estimulando a planta a realizar fotossíntese (XIAO; NIU; KOZAI, 2011).

O uso de ambientes enriquecidos com CO₂, sem adição de sacarose, influenciou positivamente no desempenho de plântulas de *Macadamia integrifolia in vitro* (CHA-UM *et al.*, 2011). Damiani e Schuch (2008) avaliando o tipo de vedação, notaram aumento na quantidade total de matéria fresca em explantes cultivados em frascos vedados com tampas, que permitem a troca gasosa em condições fotoautotróficas.

Em estudos realizados com *Aloe polyphyllapois*, observou-se que a utilização de sistemas de ventilação natural utilizando algodão ou poliéster, eliminou a ocorrência de hiper-hidricidade nas plantas, aumentando teores de clorofila nas folhas e a presença de cera epicuticular para evitar a perda de água (IVANOVA; VAN STADEN, 2010).

Lazzarini *et al.* (2019) estudando membranas que permitem a troca gasosa, observaram maior acúmulo de biomassa seca nos tratamentos que utilizaram membranas em explante com folhas. Para explante sem folhas, o tratamento com uma membrana produziu maior biomassa seca. Já no abacaxizeiro (*Ananas comosus L.*) o sistema de ventilação natural (tampas com membranas microporosas) com adição de 30 g.L⁻¹ de sacarose ao meio de cultura teve um maior crescimento de plantas comparadas a micropropagação convencional, devido alterações na anatomia foliar das plantas (SILVA *et al.*, 2014).

2.6 Estresse oxidativo

As plantas quando submetidas a fatores físicos, são capazes de fazer algumas adaptações morfológicas como mecanismos de defesa, alterando suas folhas, caules, raízes, altura e tempo de vida, podendo aumentar a atividade de enzimas antioxidantes em defesa contra os possíveis danos oxidativos. Essas adaptações moleculares incluem a regulação dos fatores de transcrição relacionados ao estresse, genes de sinalização, transportadores de íons, vias metabólicas secundárias, quinases receptoras, biossíntese de fitohormônios e enzimas antioxidantes (SALEEM *et al.*, 2021).

A *Sonchus oleraceus* possui grande quantidade de atividade antioxidante em sua composição, tais como compostos fenólicos e flavonoides. Esses antioxidantes são responsáveis pela proteção das células contra envelhecimento celular e por reduzir concentrações de radicais livres (ZONG *et al.*, 2015).

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I. J. L. D. *et al.* Medicinal and poisonous diversity of the flora of "Cariri Paraibano", Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 111, n. 2, p. 383-395, 2007.
- AL JUHAIMI, F.; GHAFOR, K.; AHMED, I. A. M.; BABIKER, E. E. *et al.* Comparative study of mineral and oxidative status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* leaves. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s.l.], v. 11, n. 4, p. 1745-1751, dec. 2017.
- ALPINAR, K.; ÖZYÜREK, M.; KOLAK, U.; GÜÇLÜ, K. *et al.* Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in ayvalik of Turkey. **Food Science and Technology Research**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 59-64, 2009.
- ALVAREZ, C.; SÁEZ, P.; SÁEZ, K.; SÁNCHEZ-OLATE, M. *et al.* Effects of light and ventilation on physiological parameters during *in vitro* acclimatization of *Gevuina avellana* mol. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 110, n. 1, p. 93-101, 01 jan. 2012.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, [s.l.], v. 23, p. 629-643, 2010.
- BASSO, A. *et al.* **Plantas Alimentícias Não Convencionais-PANC**: Resgatando a Soberania Alimentar e Nutricional. 1. ed. Caxias do Sul: UCS, 2020. 102 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de hortaliças não-convencionais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: Mapa/ACS, 2010. 92 p.
- BVENURA, C.; AFOLAYAN, A. J. Ethnobotanical survey of wild vegetables in Mbashe and Nkonkobe municipalities, Eastern Cape Province, South Africa. **Acta Botanica Gallica**, [s.l.], 161, n. 2, p. 189-199, 2014.
- CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, MM de A.; MEDEIROS, MJ L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. (Documentos)
- CHA-UM, S.; CHANSEETIS, C.; CHINTAKOVID, W.; PICHAKUM, A. *et al.* Promoting root induction and growth of *in vitro* macadamia (*Macadamia tetraphylla* L. 'Keaau') plantlets using CO₂-enriched photoautotrophic conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 106, n. 3, p. 435, 20 mar. 2011.
- DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação fotoautotrófica de mirtilo através do uso de luz natural. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 30, n. 2, p. 482-487, 2008.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Hortaliças não convencionais**. Hortaliças tradicionais: serralha. 2017.

- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Tipo de luz na multiplicação *in vitro* de framboeseira (*Rubus idaeus* L.) 'Batum'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], [s.v.], [s.n.], p. 488-490, 2005.
- ERIG, A.C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 35, p. 961-965, 2005.
- GARCIA-HERRERA, P.; SANCHEZ-MATA, M. C.; CAMARA, M.; FERNANDEZ-RUIZ, V. *et al.* Nutrient composition of six wild edible Mediterranean Asteraceae plants of dietary interest. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l.], v. 34, n. 2, p. 163-170, jun. 2014.
- GAZOLA, T.; DIAS, M. F.; DUARTE, A. P.; CARBONARI, C. A. *et al.* Phytosociology of weeds in off-season maize crops in the middle paranapanema. **Planta Daninha**, [s.l.], v. 36, p. 11, 2018.
- GOMAA, N. H.; HASSAN, M. O.; FAHMY, G. M.; GONZÁLEZ, L. *et al.* Allelopathic effects of *Sonchus oleraceus* L. on the germination and seedling growth of crop and weed species. **Acta Botanica Brasilica**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 408-416, 2014.
- GUARRERA, P. M.; MANZI, A. Wild plants of organoleptic or nutritional interest and food traditions in central Italy: Some interesting cases. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, [s.l.], v. 3, n. 3, p. 322-325, 2005.
- HSIE, B. S.; BUENO, A. I. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; DE CARVALHO, A. A. *et al.* Study of the influence of wavelengths and intensities of LEDs on the growth, photosynthetic pigment, and volatile compounds production of *Lippia rotundifolia* Cham *in vitro*. **Journal of Photochemistry e Photobiology B: Biology**198, [s.l.], [s.v.], [s.n.], p. 111-577, 2019.
- HUYAN, T.; LI, Q.; WANG, Y. L.; LI, J. *et al.* Anti-tumor effect of hot aqueous extracts from *Sonchus oleraceus* (L.) L. and *Juniperus sabina* L - Two traditional medicinal plants in China. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 185, p. 289-299, 2016.
- IVANOVA, M.; VAN STADEN, J. Natural ventilation effectively reduces hyperhydricity in shoot cultures of *Aloe polyphylla* Schönland ex Pillans. **Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 60, n. 2, p. 143-150, 20 mar. 2010.
- LAZZARINI, L. E. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; DE CARVALHO, A. A.; SANTIAGO, A. C. *et al.* Explant type and natural ventilation systems influence growth and content of carvacrol and thymol of *Lippia gracilis* Schauer. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 137, n. 1, p. 33-43, 04 jan. 2019.
- LAZZARINI, L. E. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PACHECO, F. V.; DOS SANTOS, J. *et al.* Quality and intensity of light affect *Lippia gracilis* Schauer plant growth and volatile compounds *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 135, n. 3, p. 367-379, 12 jan. 2018.

LI, Q.; DONG, D. D.; HUANG, Q. P.; LI, J. *et al.* The anti-inflammatory effect of *Sonchus oleraceus* aqueous extract on lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells and mice. **Pharmaceutical Biology**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 799-809, 2017.

ŁUCZAJ, Ł.; FRESSEL, N.; PERKOVIĆ, S. Wild food plants used in the villages of the Lake Vrana Nature Park (northern Dalmatia, Croatia). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, [s.l.], v. 82, n. 4, p. 275-281, 2013.

MALUTA, F. A.; BORDIGNON, S. R.; ROSSI, M. L.; AMBROSANO, G. M. B. *et al.* Cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar exposta a diferentes fontes de luz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 48, n. 9, p. 1303-1307, 2013.

MANALIL, S.; ALI, H. H.; CHAUHAN, B. S. Interference of annual sowthistle (*Sonchus oleraceus*) in wheat. **Weed Science**, [s.l.], v. 68, n. 1, p. 98-103, 2019.

MOBLI, A.; MATLOOB, A.; CHAUHAN, B. S. The response of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible biotypes of annual sowthistle (*Sonchus oleraceus*) to mungbean density. **Weed Science**, [s.l.], v. 67, n. 6, p. 642-648, 2019.

MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F. *et al.* Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R.; CARVALHO, A. M.; SÁNCHEZ-MATA, M. C. *et al.* Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 389-396, 2014.

MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes**. Campinas: FMC Agricultural Products, 2011.

MÜLLER, P.; LI, X.-P.; NIYOGI, K. K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. **Plant physiology**, [s.l.], v. 125, n. 4, p. 1558-1566, 2001.

OU, Z-Q; RADES, T; MCDOWELL, A. Anti-ageing effects of *Sonchus oleraceus* L.(pūhā) leaf extracts on H₂O₂-induced cell senescence. **Molecules**, [s.l.], v. 20, n. 3, p. 4548-4564, 2015.

PAULA CASEMIRO, I.; DO AMARAL VENDRAMI, A. L. 10 anos de PANC (Plantas alimentícias não convencionais) –Análise e tendências sobre o tema. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, [s.l.], v. 2, n. 3, p. 44-93, 2021.

PHILLIPS, G. C.; GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: an overview. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, [s.l.], v. 55, n. 3, p. 242-257, 2019.

QIAN, H.; LIU, T.; DENG, M.; MIAO, H. *et al.* Effects of light quality on main health-promoting compounds and antioxidant capacity of Chinese kale sprouts. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 196, p. 1232-1238, 04 jan. 2016.

RADMANN, E. B.; BRAGA, E. J.; KARAN, M. A.; POSADA, M. A. *et al.* Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 171-175, 2001.

ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; MOSELE, S. H. Uso de LEDs na multiplicação *in vitro* de três cultivares de bananeira. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, [s.l.], v. 11, n. 2, p. 247-252, 2017.

SALEEM, S. *et al.* Morpho-Physiological, Biochemical and Molecular Adaptation of Millets to Abiotic Stresses: A Review. **Phyton**, [s.l.], v. 90, n. 5, p. 1363, 2021.

SILVA, A. B.; CORREA, V. R. S.; TOGORO, A. H.; SILVA, J. A. S. Efeito da luz e do sistema de ventilação natural em abacaxizeiro (Bromeliaceae) micropropagado. **Bioscience Journal**, [s.l.], v. 30, n. 2, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 105, n. 2, p. 149-158, 05 jan. 2011.

ZOBAYED, S. M. A.; ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Multiple shoot induction and leaf and flower bud abscission of Annonacultures as affected by types of ventilation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 69, n. 2, p. 155-165, 05 maio 2002.

CAPÍTULO 2 INTENSIDADE DE FÓTONS DE LUZ NO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA DE *SONCHUS OLERACEUS L.*

RESUMO

Sonchus oleraceus, popularmente conhecida como serralha, é uma planta alimentícia não convencional e medicinal pelas suas características nutricionais, e por apresentar compostos fenólicos em sua composição. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de mudas micropropagadas de *Sonchus oleraceus* sob efeito de intensidades de luz no acúmulo de matéria seca, concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos. Os segmentos nodais foram cultivados em meio de cultura MS sob intensidade de 26, 70, 100, 113 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Aos 40 dias após a implantação da cultura, avaliou-se o número de folhas, massa seca do caule, da folha e da raiz, pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos. Plântulas de serralha em altas intensidades produziram maior número de folhas ($> 0,6$ cm), e baixas intensidades de luz produziu maior número de folhas ($< 0,3$ cm). Maiores intensidades de luz proporcionaram maior acúmulo de matéria seca para todas as variáveis analisadas. As intensidades de luz não influenciaram os teores de pigmentos fotossintético. As intensidades acima de 70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ promoveu maior atividade de compostos fenólicos. Contudo, as intensidades entre 70 a 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ promoveram maiores valores em todas as variáveis analisadas.

Palavras chaves: Mudas micropropagadas. Pigmentos fotossintéticos. Compostos fenólicos.

ABSTRACT

Sonchus oleraceus, popularly known as sowthistle, is an unconventional and medicinal food plant due to its nutritional characteristics and for presenting phenolic compounds in its composition. The objective of this work was to evaluate the production of micropropagated *Sonchus oleraceus* plantlets under the effect of light intensities on the accumulation of dry matter, concentration of photosynthetic pigments and phenolic compounds. Nodal segments were grown in MS culture medium under intensity of 26, 70, 100, 113 and 144 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. At 40 days after culture establishment, leaf number, stem, leaf and root dry mass, photosynthetic pigments and phenolic compounds were evaluated. Sowthistle plantlets at high light intensities produced greater number of leaves (> 0.6 cm) and under low light intensities produced greater number of leaves (< 0.3 cm). Higher light intensities provided greater dry matter accumulation for all variables analyzed. Light intensities did not influence photosynthetic pigment contents. Intensities above 70 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ promoted higher activity of phenolic compounds. Nevertheless, the intensities between 70 to 144 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ promoted higher values in all variables analyzed.

Keywords: Micropropagated plantlet. Photosynthetic pigments. Phenolic compounds.

1 INTRODUÇÃO

A planta *Sonchus oleraceus* L. (Asteraceae) é conhecida como serralha ou *sowthistle*, é considerada infestante de várias lavouras, frequentemente encontrada o ano todo. A serralha é muito utilizada como planta medicinal pelas suas propriedades biológicas, sendo usada como diurético para anemia, doenças hepáticas e vitiligo no estado de Minas Gerais, Brasil (ANJOS *et al.*, 2018). *Sonchus oleraceus* é originária da Europa e é bem adaptada ao território nacional devido sua rusticidade. Atualmente, vem crescendo o seu consumo devido a seu paladar levemente amargo e suas propriedades neutracêuticas (EMBRAPA, 2017).

A *Sonchus oleraceus* é conhecida pelas suas propriedades medicinais devido seu grande potencial de uso em antioxidantes naturais, seguros e saudáveis, e pelo extrato de suas folhas apresentar compostos fenólicos, minerais, antocianina e fenólicos com elevado potencial antioxidante (AL JUHAIMI *et al.*, 2017).

A luz é muito importante no ciclo das plantas, para realizar fotossíntese, basicamente sintetizando compostos carbonados complexos (TAIZ *et al.*, 2017). Na cultura de tecidos, utiliza-se lâmpadas luz branca fria em salas de crescimento para fornecer luz necessária para as plantas (ROCHA *et al.*, 2017). Em diferentes intensidades luminosas as plantas podem sofrer alterações, como caules mais finos e flexíveis se forem cultivados em ambientes com baixa densidade de fluxo luminoso. Na propagação *in vitro* de plantas recomenda-se conhecer a intensidade de luz específica para cada cultura em busca de produzir plantas mais vigorosas (RADMANN *et al.*, 2001).

Em diferentes intensidades luminosas as plantas micropropagadas apresentam o crescimento e o acúmulo de metabólitos secundários e pigmentos fotossintéticos. Plântulas de *Urtica dioica* L. submetidas à alta intensidade de luz sofreram um leve estresse, aumentando sua atividade de compostos fenólicos (COELHO *et al.*, 2021). Intensidades de luz possui influência no acúmulo de matéria seca, produção de pigmentos fotossintéticos e compostos orgânicos voláteis de plântulas de *Aeollanthus suaveolens* (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Apesar da serralha ser uma planta muito conhecida pelas suas propriedades nutricionais e medicinais, não existem trabalhos de *Sonchus oleraceus* micropropagada sobre intensidade luminosa. Este trabalho tem como objetivo a produção de mudas micropropagadas de *Sonchus oleraceus* sob efeito de intensidades de luz no acúmulo de matéria seca, concentração de pigmentos fotossintéticos e composto fenólico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização experimental

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais no Departamento de Agricultura, e análises químicas biológicas foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade da Universidade Federal de Lavras (DAG / UFLA), localizada na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, com 918 m de altitude.

2.2 Germinação e estabelecimento *in vitro*

Sementes de *Sonchus oleraceus* foram obtidas da coleção de germoplasma de hortaliças não convencionais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Em câmara de fluxo, as sementes foram transferidas para um recipiente contendo álcool 70%, sendo agitados por 1 minuto. Posteriormente, foram transferidos para hipoclorito a 2% na proporção 1/1 de água, agitado manualmente em um período de 15 minutos, e lavados três vezes com água destilada autoclavada. Após a assepsia, as sementes foram transferidas para tubos de ensaio (25x150 mm) contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7± 0,1 e autoclavado a 120 °C e 1 atm, por 20 minutos. As sementes foram germinadas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h luz/8h escuro, sob intensidade luminosa de 42 μmol m⁻² s⁻¹, à temperatura de 26±1 °C. Depois de 40 dias de estabelecimento, as plântulas foram repicadas utilizando explante de segmento nodal.

2.3 Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) contendo cinco intensidades de lâmpadas LED (1 lâmpada 26 μmol m⁻² s⁻¹; 3 lâmpadas 70 μmol m⁻² s⁻¹; 4 lâmpadas 100 μmol m⁻² s⁻¹; 5 lâmpadas 113 μmol m⁻² s⁻¹; 6 lâmpadas 144 μmol m⁻² s⁻¹) aferidas por meio do medidor PRO CHECK + PAR PHOTON FLUX SENSOR, MODELO QSO-S (DECAGON DEVICES – Pullman-Washington-USA). Contendo cinco repetições com cinco

explantes por repetição. O experimento foi implementado em tubo de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7± 0,1 e autoclavado a 120 °C e 1 atm, por 20 minutos. Contendo 1 segmento nodal por tubo com aproximadamente 0,5 cm de comprimento. Mantido em sala de crescimento em temperatura de 26±1 °C.

2.4 Variáveis analisadas

As variáveis respostas analisadas no experimento foram avaliações agronômicas, análise de teores de pigmentos fotossintetizantes e compostos fenólicos totais.

2.4.1 Avaliações agronômicas

O material vegetal fresco foi transferido para sacos de papel kraft e acondicionado em estufa de circulação forçada de ar, a 37 °C ±2, até peso constante. Em seguida, as massas (g) foram mensuradas em balança de precisão. Para o número de folhas, as mesmas foram divididas em três tamanhos: pequena (< 0,3 cm), média (0,3 a 0,6 cm), grande (> 0,6 cm).

2.4.2 Análise de pigmentos fotossintetizantes

Os teores de pigmentos fotossintetizantes foram mensurados a partir de 50 mg de folha fresca sem nervura. Os pigmentos foram extraídos com 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO₃) em tubos de Falcon revestidos com papel alumínio e mantidos em estufa de circulação forçada por 48 h na temperatura de 65 °C, de acordo a metodologia de Hiscox e Israelstam (1979). Para cada tratamento foi preparada uma amostra branca. A leitura foi feita em cubeta de quartzo no comprimento de onda de 480 (carotenóides), 649 (clorofila *a*) e 665 (clorofila *b*) nm no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, contra o branco. As amostras preparadas em triplicatas.

Para determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenóides utilizou-se as equações propostas por Wellburn (1994): Clorofila *a* = (12,47 x A₆₆₅) – (3,62 x A₆₄₉); clorofila *b* = (25,06 x A₆₄₉) – (6,5 x A₆₆₅); carotenóides: (1000 x A₄₈₀ – 1,29 x *Ca* – 53,78

$\times Cb)/220$. Para determinar a clorofila total foi realizada a soma dos resultados das equações de clorofila *a* e *b*. Todos os resultados foram expressos em mg g^{-1} .

2.4.3 Análises de compostos fenólicos

2.4.3.1 Preparo dos extratos e condições gerais

Folhas secas foram trituradas em moinho de facas e tamisada em peneira de 20 mesh. Para microtubos foram transferidos 50 mg de folhas secas trituradas e 2 mL de MeOH:H₂O (1:1), os microtubos foram agitados individualmente por 5 segundos, em vortex para homogeneização do material e, posteriormente, submetidos à extração por sonicação por 15 minutos. Após a sonicação, o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e armazenado. Esse processo foi realizado por três vezes. As leituras de absorção molecular no ultravioleta foram mensuradas na leitora de microplacas TECAN INFINITY M200 PRO, operada com o sistema de processamento de dados I-control ® versão 3.37. As amostras foram preparadas em quintuplicata.

2.4.3.2 Doseamento de compostos fenólicos totais

A dosagem de compostos fenólicos totais foi feita pelo método de Folin Ciocalteu, com modificações (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em microplacas de 96 poços, foram adicionados 50 μL da amostra, 100 μL de solução etanólica de Folin-Ciocalteu (10%) e após 2 min de reação, foi adicionado 125 μL de Na₂CO₃ (7,0%). As amostras foram mantidas por 20 minutos no escuro à temperatura ambiente, para posterior leitura. A absorbância foi lida a 760 nm. A curva de calibração foi constituída com padrão ácido gálico (Sigma-Aldrich, 98%) na faixa de 0,7188 a 1,2316 mg mL^{-1} , gerando a equação $y = 2,2178 x - 0,1251$ ($R^2 = 0,9986$). A partir da equação da reta, calcularam-se o acúmulo dos compostos fenólicos totais, sendo os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de matéria seca de folha (mgEAG gMSF^{-1}).

2.5 Análise estatística

Após as avaliações dos experimentos, os dados foram coletados e submetidos à análise de variância, cujas médias foram comparadas entre si, usando o teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de crescimento

As diferentes intensidades de luz influenciaram significativamente no tamanho das folhas de *Sonchus oleraceus in vitro* (TABELA 1 e FIGURA 1). As folhas da *Sonchus oleraceus* apresentaram borda desuniforme para realizar a área da foliar, assim foi feita a contagem do número de folha em três larguras. O cultivo da *Sonchus oleraceus* sob intensidade de luz de 113 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ indicaram a maior emissão de folhas ($> 0,6$ cm), com 26 e 26,25 folhas. Foram observadas folhas com (0,3 a 0,6 cm) de largura, na intensidade de luz com 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obtendo o máximo de 30,25 folhas. A maior quantidade de folhas ($< 0,3$ cm) de largura foi na intensidade 70 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com 62,75 e 55,25 respectivamente.

Tabela 1 - Número de folhas conforme o tamanho de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes intensidades de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021.

Intensidade luz ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Folhas $> 0,6$ cm	Folhas 0,3 a 0,6 cm	Folhas $< 0,3$ cm	Total de folhas
26	14,00 c	12,75 d	44,75 b	71,50 d
70	17,75 b	24,50 b	62,75 a	105,00 a
100	17,00 b	30,25 a	55,25 a	102,50 a
113	26,00 a	22,50 b	38,50 b	87,00 b
144	26,25 a	17,25 c	37,25 b	80,75 c
C.V.%	10,02	13,20	10,88	3,59

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

Esses resultados mostraram que o tamanho das folhas depende da intensidade de fótons de luzes, altas intensidades produziram maior número de folhas (0,6 cm) e baixas intensidades de luzes produziram maior número de folhas ($< 0,3$ cm), devido a quantidade de fótons de luz absorvida pela planta. Altas intensidades de luz promovem maiores taxas fotossintéticas e, conseqüentemente, plantas com maior área foliar, sendo assim, menores taxas fotossintéticas produzem elevado número de folhas ($< 0,3$ cm).

O acúmulo de matéria seca das plântulas também foi influenciado pelas intensidades luminosas. As intensidades 100 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ indicaram maior acúmulo de matéria seca

de raízes (TABELA 2). Para matéria seca do caule, os melhores valores foram encontrados nas intensidades 70, 100 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (TABELA 2). A intensidade 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ teve maior matéria seca da folha (166,65 mg). Para matéria seca total a intensidade 100 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obtiveram melhores acúmulos 242,38 e 260,73 mg, respectivamente (TABELA 2). No geral, as maiores intensidades de luz proporcionaram maior acúmulo de matéria seca para todas as variáveis analisadas.

Tabela 2 - Acúmulo de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* cultivadas por 40 dias sob diferentes intensidades de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021. MSF: matéria seca foliar; MSC: matéria seca do caule; MSR: matéria seca da raiz; MST: matéria seca total.

Intensidade luz ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	MSR	MSC	MSF	MST
mg.....			
26	8,55 c	43,65 b	63,10 d	115,30 c
70	19,23 b	68,63 a	128,88 c	216,73 b
100	24,90 a	75,88 a	141,60 c	242,38 a
113	20,50 b	56,40 b	150,98 b	227,88 b
144	27,13 a	66,95 a	166,65 a	260,73 a
C.V.%	24,42	15,20	7,35	7,36

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

Figura 1 - Plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) oriundas de segmentos nodais cultivados em meio MS em diferentes intensidades de luz (26, 70, 100, 113 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021



Fonte: Do autor (2021).

O efeito da intensidade luminosa é dependente da espécie. Rosa *et al.* (2020) reportaram em *Anacardium othonianum* Rizz , que a intensidades de fótons de luz sob $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, proporcionaram maiores valores para área foliar e ,consequentemente, maiores valores de biomassa seca. Abaixo de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, não proporcionaram resposta no suprimento energético satisfatório para o acúmulo de biomassa no cultivo *in vitro*.

Em plantas micropropagadas de *Chrysanthemum* houve maior acúmulo de biomassa em alta intensidade luminosa (ZHENG; VAN LABEKE 2018). Srithongkul *et al.* (2011) demonstraram que com menor intensidade de luz obteve-se menor biomassa fresca e seca em *Centella asiática*, e não ocorreu aumento na área foliar e comprimento do pecíolo.

O cultivo de plantas micropropagadas em determinadas intensidades de luz, promove otimização de cultivo, como melhorar seu processo de adaptação e diminui a taxa de mortalidade das plantas na aclimatização. Intensidades de luz entre 75 e $230 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mostraram maior valores nos parâmetros analisados em plântulas *Stevia rebaudiana* em condições *in vitro* (NAKONECHNAYA *et al.*, 2019). As intensidades de luz mais altas aumentaram a massa fresca e seca de plantas de *Acer saccharum Marsh* (SINGH *et al.*, 2017).

Plântulas de *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng cultivadas sob intensidade de $139 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tiveram maiores valores de peso seco, comparado as menores intensidades (ARAÚJO *et al.*, 2021). Plântulas de *Mentha arvensis* L. (*Lamiaceae*) micropropagadas em intensidades de luz $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, registraram melhor crescimento, com maior acúmulo de matéria seca em todas as variáveis analisadas (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

3.2 Análises de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais

Em relação às análises de pigmentos fotossintéticos, observou-se que a utilização de diferentes intensidades de luz não afetou os teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides em plântulas micropropagadas de *Sonchus oleraceus in vitro* (TABELA 3). As intensidades luminosas não influenciaram nas concentrações de pigmentos fotossintéticos, pelo fato das moléculas de clorofila, ao absorverem altas intensidades de fótons de luz, alteram temporariamente suas configurações eletrônicas. Desta maneira, estes pigmentos fotossintéticos, após receberem a energia dos fótons, dissipam esta energia proveniente da luz, não afetando nas concentrações de clorofila (CAMPOSTRINI, 2001).

Tabela 3 - Concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais (CFT) de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes intensidades de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021.

Intensidade luz	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides	CFT
$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	mg g ⁻¹				(mg EAG.g ⁻¹)
26	0,85 a	0,19 a	1,04 a	0,21 a	69,48 d
70	1,03 a	0,27 a	1,31 a	0,24 a	103,75 a
100	1,12 a	0,25 a	1,37 a	0,28 a	86,09 c
113	1,07 a	0,23 a	1,30 a	0,25 a	89,89 b
144	0,98 a	0,23 a	1,21 a	0,22 a	104,43 a
C.V.%	15,90	18,85	16,31	15,84	2,17

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. CFT: compostos fenólicos totais expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de matéria seca de folha.

Fonte: Do autor (2021).

O cultivo de plantas em área sombreada tende a apresentar maiores teores de pigmentos fotossintéticos quando comparados com as plantas cultivadas em ambientes com presença de luz. Em plantas de *Salvia officinalis* L. foi observado maior teor de pigmentos fotossintéticos nas folhas na presença de pouca luz, devido ao excesso de luz causar degradação e reduzir os níveis de clorofila na planta (ZERVOUDAKIS e *et al.*, 2012).

Altas intensidades de luz absorvidas pelas plantas podem danificar as membranas fotossintéticas das células. Os carotenoides são pigmentos que possuem papel essencial na fotoproteção dessas membranas na presença de excesso de luz (TAIZ *et al.*, 2017). As plantas *in vitro* de *Limonium sinuatum* não tiveram respostas significativas nas variáveis analisadas, sendo capazes de ajustar seu metabolismo sob resposta às pequenas diferenças na intensidade de luz dos tratamentos aplicados (SÁNCHEZ *et al.*, 2018).

Em relação aos fenóis totais como exposto acima (TABELA 3), observou-se que houve diferença estatística nas intensidades de luz analisadas, as intensidades de 70 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obtiveram maiores valores de compostos fenólicos com 103,75 e 104,43 mg de ácido gálico/g de planta seca. De modo geral, as intensidades acima de 26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ proporcionaram as melhores atividades de compostos fenólicos.

As plantas submetidas à alta intensidade luminosa, podem apresentar estresse oxidativo, ocasionando espécie reativas de oxigênio alterando seu metabolismo produzindo maiores teores de compostos do metabolismo secundário para se proteger, nesse caso, a planta produz mais compostos fenólicos (MITTLER, 2017).

Os compostos fenólicos são agentes de defesa em resposta ao estresse. A concentração dos fenólicos aumentou em intensidades de luz mais altas. A atividade antioxidante foi diretamente proporcional ao aumento da intensidade da luz; este resultado indica que o uso de $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ iniciou uma indução de estresse leve em plântulas de *Urtica dioica L.* (COELHO *et al.*, 2021). Plantas em alta intensidade de luz sob condições de estresse, podem ativar seu metabolismo secundário e produzir metabólitos para se proteger de possíveis danos fotooxidativos. Observado em plantas medicinais de *Aeollanthus suaveolens* (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Plantas de *Anacardium othonianum Rizz.* cultivadas *in vitro* sob intensidades luminosas abaixo de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ não tiveram acúmulo satisfatório de metabólitos secundários pelo baixo suprimento energético satisfatório. Sendo assim, variar a densidade do fluxo de fótons é uma estratégia para promover fotoautotrofismo e eliciar os metabólitos secundários encontrados na planta (ROSA *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÃO

Plântulas de serralha em altas intensidades de luz produzem maior número de folhas (> 0,6 cm), e baixas intensidades de luzes produziram maior número de folhas (< 0,3 cm). Maiores intensidades de luz proporcionaram maior acúmulo de matéria seca para todas as variáveis analisadas. As intensidades não influenciaram os teores de clorofila e carotenoides. Intensidades entre 100 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ promoveram maior atividades de compostos fenólicos.

REFERÊNCIAS

- AL JUHAIMI, F.; GHAFOR, K.; AHMED, I. A. M.; BABIKER, E. E. *et al.* Comparative study of mineral and oxidative status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* leaves. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s.l.], v. 11, n. 4, p. 1745-1751, dec. 2017.
- ARAÚJO, D. X. *et al.* Photon flux density and wavelength influence on growth, photosynthetic pigments and volatile organic compound accumulation in *Aeollanthus suaveolens* (Catinga-de-mulata) under *in vitro* conditions. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 168, p. 113-597, 2021.
- CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a**: considerações teóricas e aplicações práticas. Rio de Janeiro: UFNF, 2001.
- COELHO, A. D. *et al.* Wavelength and light intensity enhance growth, phytochemical contents and antioxidant activity in micropropagated plantlets of *Urtica dioica* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 145, n. 1, p. 59-74, 2021.
- DE OLIVEIRA, T. *et al.* The effect of alternative membrane system, sucrose, and culture methods under photosynthetic photon flux on growth and volatile compounds of mint *in vitro*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, [s.l.], v. 57, n. 3, p. 529-540, 2021.
- DOS ANJOS NONATO, I. *et al.* Healing Effects of Formulations with Extract of *Sonchus oleraceus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s.l.], v. 46, n. 1, p. 7, 2018.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Hortaliças não convencionais**. Hortaliças tradicionais: serralha. 2017.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A Computer Analysis System to Fixed Effects Split Plot Type Designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. Different methods of chlorophyll extraction. **Can. J. Bot**, [s.l.], v. 57, n. 1332-1332, 1979.
- MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends Plant Science**, [s.l.], n. 22, v. 1, p. 11-19, 2017.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NAKONECHNAYA, O. V. *et al.* Effect of Light Intensity on the Morphogenesis of *Stevia rebaudiana* under *In Vitro* Conditions. **Russian Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 66, n. 4, p. 656-663, 2019.
- RADMANN, E. B.; BRAGA, E. J.; KARAN, M. A.; POSADA, M. A. *et al.* Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, [s.l.], 7, n. 3, p. 171-175, 2001.

ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; MOSELE, S. H. Uso de LEDs na multiplicação *in vitro* de três cultivares de bananeira. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, [s.l.], v. 11, n. 2, p. 247-252, 2017.

ROSA, M. *et al.* Variations in photon flux density alter the morphophysiological and chemical characteristics of *Anacardium othonianum* Rizz. *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 140, n. 3, p. 523-537, 2020.

SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, J. *et al.* Subtle changes in light intensity affect *in vitro* responses but not *ex vitro* performance of *Limonium sinuatum*. **3 Biotech**, [s.l.], v. 8, n. 8, p. 1-7, 2018.

SINGH, A. S. *et al.* High light intensity stress as the limiting factor in micropropagation of sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 129, n. 2, p. 209-221, 2017.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 144-158, 1965.

SRITHONGKUL, J. *et al.* Effects of light intensity on growth and accumulation of triterpenoids in three accessions of Asiatic pennywort (*Centella asiatica* (L.) Urb.). **J Food Agric Environ**, [s.l.], v. 9, p. 360-363, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

WELLBURN, R. W. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v.144, n. 3, p. 307-313, 1994.

ZERVOUDAKIS, G. *et al.* Influence of light intensity on growth and physiological characteristics of common sage (*Salvia officinalis* L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 89-95, 2012.

ZHENG, L; VAN LABEKE, M-C. Effects of different irradiation levels of light quality on *Chrysanthemum*. **Scientia Horticulturae**, v. 233, p. 124-131, 2018.

CAPÍTULO 3 ESPECTRO DE LUZ NO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA DE *SONCHUS OLERACEUS* I.

RESUMO

Sonchus oleraceus é uma planta popularmente conhecida como serralha, fazendo parte da alimentação humana devido suas propriedades nutricionais e medicinais, pelo seu grande potencial de compostos fenólicos em sua composição. Este trabalho teve como objetivo avaliar o acúmulo de matéria seca, concentração de pigmentos fotossintéticos e acúmulo de compostos fenólicos da *Sonchus oleraceus* em diferentes espectros de luz *in vitro*. Assim, as plântulas de segmento nodal foram inoculadas em meio MS em sete espectros de luzes LEDs: vermelha; azul; verde; branca; 70% vermelha: 30% azul; 50% vermelha: 50% azul; 30% vermelha: 70% azul. Aos 40 dias de implementação do experimento, foram feitas as avaliações de número de folhas, matéria seca da folha, do caule e das raízes, teor de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos. Os espectros de luzes afetaram o ganho de matéria seca das plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro*. Maiores acúmulos de matéria seca de folhas, caule, raiz e total foram observados em plântulas cultivadas sob a luz branca LED, seguido do espectro de 70% V: 30% A. Tendência de estiolamento foi observada em plântulas cultivadas sob os espectros monocromáticos vermelho e verde. Nos espectros monocromáticos vermelhos e verdes as plântulas tiveram uma tendência de estiolamento. À luz verde observou-se maiores teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides seguida pela combinação de 70% V:30%A. As plântulas cultivadas sob a luz branca LED apresentaram os melhores valores para compostos fenólicos totais. Dessa forma, os resultados indicam que as plântulas de *Sonchus oleraceus* possuem melhor desenvolvimento nas intensidades nos espectros de luz branca.

Palavras-chaves: Serralha. Plantas micropropagadas. Qualidade de luz.

ABSTRACT

Sonchus oleraceus is a plant popularly known as sowthistle, being part of the human diet due to its nutritional and medicinal properties, for its great potential of phenolic compounds in its composition. This work aimed to evaluate the dry matter accumulation, photosynthetic pigments concentration and phenolic compounds accumulation of *Sonchus oleraceus* in different light spectra in vitro. Thus, nodal segment seedlings were inoculated on MS medium in seven LED light spectra: red; blue; green; white; 70% red: 30% blue; 50% red: 50% blue; 30% red: 70% blue. At 40 days after the implementation of the experiment, leaf number, leaf, stem and root dry matter, photosynthetic pigment content and phenolic compounds were evaluated. The light spectra affected the dry matter gain of *Sonchus oleraceus* seedlings in vitro. Higher accumulations of leaf, stem, root and total dry matter were observed in seedlings grown under the white LED light, followed by the 70% V: 30% A spectrum. Stiolation tendency was observed in seedlings grown under the red and green monochromatic spectra. The red and green monochromatic spectra showed a tendency for seedlings to stultify. Green light observed higher levels of chlorophyll a, b, and carotenoids followed by the 70%V:30%A combination. The seedlings grown under white LED light showed the best values for total phenolic compounds. Thus, the results indicate that *Sonchus oleraceus* seedlings have a better development at intensities in the white light spectra.

Key-words: Sowthistle. Micropropagated plants. Light quality.

1 INTRODUÇÃO

A planta *Sonchus oleraceus* L. (Asteraceae) é conhecida como serralha, chicória brava, serralha branca, serralha lisa, ciumo, serralheira, serralha lisa e serralha verdadeira. É uma espécie herbácea, anual ou bianual, com caule cilíndrico, lactescente, canaliculado, ceríceo e verde, com poucas ramificações. A planta apresenta folhas alternadas, limbo foliar superior ovalado, serradas ou dentadas irregulares, folhas basais recortadas assemelhando-se às folhas compostas. A inflorescência é do tipo cacho de capítulos, fruto seco tipo aquênio de coloração branca, sedosos e longos (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011).

As plantas necessitam de luz para realizar fotossíntese para produção de fotoassimilados e para seu crescimento. A qualidade da luz tem grande efeito na produção de fotoassimilados, influenciando no crescimento, estrutura e floração das plantas (SINGH *et al.*, 2015). As luzes que as plantas absorvem são ultravioleta, visível e infravermelha, nos comprimentos de onda entre 300 a 800 nm. A qualidade de luz desempenha grande importância no desenvolvimento das plantas, mas está diretamente associada a intensidade luminosa recebida pelas mesmas (CASIERRA-POSADA; PEÑA-OLMOS, 2015).

O uso de qualidade de luz teve influência em clones de eucalipto micropropagado em condições fotoautotróficas (MIRANDA *et al.*, 2020). Plântulas de *Achillea millefolium* L. tiveram maior acúmulo de matéria seca em espectro de luz azul (ALVARENGA *et al.*, 2015). O maior acúmulo de peso seco foi obtido nas luzes 2,5 vermelho / 1 azul em plântulas de *Urtica dioica* L. (COELHO *et al.*, 2021). Plântulas de *Dysphania ambrosioides* L. apresentaram maior crescimento usando LED branco ou uma combinação azul: vermelho de 2: 1 (CARVALHO *et al.*, 2020). A interação de luzes LEDs tem efeito de aumentar o potencial fotossintético, absorvendo mais energia da luz, resultando em maior produção de compostos fenólicos (REN *et al.*, 2018).

Plantas submetidas a qualidades de luzes possuem influência nos teores de clorofila *a*, *b* e carotenóides (ARAÚJO *et al.*, 2021). Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar o acúmulo de matéria seca, concentração de pigmentos fotossintéticos e acúmulo de compostos fenólicos da serralha em diferentes espectros de luz *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização experimental

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais no Departamento de Agricultura, e análises químicas biológicas foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade da Universidade Federal de Lavras (DAG / UFLA), localizada na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, com 918 m de altitude.

2.2 Germinação e estabelecimento *in vitro*

A obtenção das plantas foi realizada por germinação *in vitro* de sementes obtidas da coleção de germoplasma da UFLA. Em câmara de fluxo, as sementes foram transferidas para um recipiente contendo álcool 70%, sendo agitados por 1 minuto e, posteriormente, transferidos para hipoclorito a 2% na proporção 1/1 de água, agitado manualmente em um período de 15 minutos, e lavados três vezes com água destilada autoclavada. Após a assepsia, as sementes foram transferidas para tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7± 0,1 e autoclavado a 120°C e 1 atm, por 20 minutos. As plântulas foram cultivadas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h luz/ 8h escuro, sob intensidade luminosa de 42 μmol m⁻² s⁻¹, à temperatura de 26±1 °C. Depois de 40 dias de estabelecimento, as plântulas foram repicadas utilizando explante de segmento nodal.

2.3 Delineamento experimental

Para o experimento foram utilizadas luzes LEDs com sete espectros: vermelha; azul; verde; branca; 70% vermelha: 30% azul; 50% vermelha: 50% azul; 30% vermelha: 70% azul, contendo 5 repetições com 5 plantas, sendo um delineamento inteiramente casualizado (DIC). O experimento foi realizado em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7±0,1 e autoclavado a 120 °C e 1 atm, por 20 minutos. Em cada tubo tinha um segmento nodal

de aproximadamente 0,5 cm de comprimento. Em seguida encaminhados para sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1 °C.

2.4 Variáveis analisadas

As variáveis respostas analisadas no experimento foram avaliações agronômicas, análise de teores de pigmentos fotossintetizantes e compostos fenólicos totais.

2.4.1 Avaliações agronômicas

O material vegetal fresco foi transferido para sacos de papel kraft e acondicionado em estufa de circulação forçada de ar, a 37 °C ± 2 , até peso constante. Em seguida, as massas (g) foram mensuradas em balança de precisão. Para o número de folhas, as mesmas foram divididas em três tamanhos: pequena ($< 0,3$ cm), média (0,3 a 0,6 cm), grande ($> 0,6$ cm).

2.4.2 Análise de pigmentos fotossintetizantes

Os teores de pigmentos fotossintetizantes foram mensurados a partir de 50 mg de folha fresca sem nervura. Os pigmentos foram extraídos com 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3) em tubos de Falcon revestidos com papel alumínio e mantidos em estufa de circulação forçada por 48 h na temperatura de 65 °C, de acordo a metodologia de Hiscox e Israelstam (1979). Para cada tratamento foi preparada uma amostra branca. A leitura foi feita em cubeta de quartzo no comprimento de onda de 480 (carotenóides), 649 (clorofila *a*) e 665 (clorofila *b*) nm no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, contra o branco. As amostras foram preparadas em triplicatas.

Para determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenóides utilizou-se as equações propostas por Wellburn (1994): Clorofila *a* = $(12,47 \times A_{665}) - (3,62 \times A_{649})$; clorofila *b* = $(25,06 \times A_{649}) - (6,5 \times A_{665})$; carotenóides: $(1000 \times A_{480} - 1,29 \times Ca - 53,78 \times Cb)/220$. Para determinar a clorofila total foi realizada a soma dos resultados das equações de clorofila *a* e *b*. Todos os resultados foram expressos em mg g^{-1} .

2.4.3 Análises de compostos fenólicos

2.4.3.1 Preparo dos extratos e condições gerais

Folhas secas foram trituradas em moinho de facas e tamisada em peneira de 20 mesh. Para microtubos foram transferidos 50 mg de folhas secas trituradas e 2 mL de MeOH:H₂O (1:1), os microtubos foram agitados individualmente por 5 segundos, em vortex para homogeneização do material e posteriormente submetidos à extração por sonicação por 15 minutos. Após a sonicação, o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e armazenado. Esse processo foi realizado por três vezes. As leituras de absorção molecular no ultravioleta foram mensuradas na leitora de microplacas TECAN INFINITY M200 PRO, operada com o sistema de processamento de dados I-control ® versão 3.37. As amostras foram preparadas em quintuplicata.

2.4.3.2 Doseamento de compostos fenólicos totais

A dosagem de compostos fenólicos totais foi feita pelo método de Folin Ciocalteau, com modificações (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em microplacas de 96 poços, foram adicionados 50 µL da amostra, 100 µL de solução etanólica de Folin-Ciocalteau (10%) e após 2 min de reação, foi adicionado 125 µL de Na₂CO₃ (7,0%). As amostras foram mantidas por 20 minutos no escuro à temperatura ambiente, para posterior leitura. A absorbância foi lida a 760 nm. A curva de calibração foi constituída com padrão ácido gálico (Sigma-Aldrich, 98%) na faixa de 0,7188 a 1,2316 mg mL⁻¹, gerando a equação $y = 2,2178 x - 0,1251$ ($R^2 = 0,9986$). A partir da equação da reta, calcularam-se o acúmulo dos compostos fenólicos totais, sendo os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de matéria seca de folha (mgEAG gMSF⁻¹).

2.5 Análise estatística

Após as avaliações dos experimentos, os dados foram coletados e submetidos a análise de variância, cujas médias foram comparadas entre si usando o teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de crescimento

No que diz respeito à quantidade de folhas de plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro*, notou-se na Tabela 1, que plântulas com folhas (> que 0,6 cm), não foram afetadas no número de folhas sob os espectros de luzes. As plântulas cultivadas sob os espectros 30%V:70%A e 70%V:30%A obtiveram maiores quantidades de folhas nos tamanhos entre (0,3 e 0,6 cm) e os menores tamanhos foram observados nos espectros azul e 50%V:50%A (TABELA 1). O total de folhas variou de 78,5 a 121,75 dependendo do espectro de luz utilizado na tabela a seguir.

Tabela 1 - Quantidade de folhas de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes espectros de luz, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021.

Espectros de Luzes	Folhas > 0,6 cm	Folhas 0,3 a 0,6 cm	Folhas < 0,3 cm	Total de folhas
Azul (A)	21,00 a	19,25 b	65,00 a	105,25 a
Vermelho (V)	21,00 a	18,00 b	44,75 a	83,75 b
Verde	12,75 a	16,50 b	49,25 a	78,50 b
Branco	23,00 a	22,75 b	48,75 a	94,50 b
50%V:50%A	18,75 a	38,50 a	64,50 a	121,75 a
30%V:70%A	19,75 a	43,75 a	46,75 a	110,25 a
70%V:30%A	18,25 a	40,75 a	47,50 a	106,50 a
CV%	21,28	19,74	24,33	10,82

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

A qualidade de luz possui grande influência no número de folhas de plantas micropropagadas. O uso de luz LED azul na multiplicação de gérbera *in vitro* proporcionou folhas menos desenvolvidas com menor tamanho e espessura. Entretanto, a interação da luz azul e vermelha proporcionou folhas maiores e mais espessas (CIOĆ; PAWŁOWSKA, 2020).

Folhas de *Camellia oleifera Huajin* na combinação de espectros de luz vermelho e azul, resultando em folhas com maior densidade estomática, mais grossas e espessas (HE *et al.*, 2020). A interação das luzes vermelha e azul promoveu maiores tamanhos de folhas de *Solanum melongena in vitro* (DI *et al.*, 2020).

Os espectros de luzes afetaram o ganho de matéria seca das plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro* (TABELA 2). O cultivo das plântulas sob a luz branca LED indicou maiores acúmulos de matéria seca de folha, caule, raiz e total. As interações da luz azul e vermelha

obtiveram melhor ganho de matéria seca de folhas do que os espectros monocromáticos em *Sonchus oleraceus*. Os aspectos das plântulas cultivadas sob diferentes espectros de luzes são mostrados na Figura 1. Nos espectros monocromáticos vermelhos e verdes as plântulas tiveram uma tendência de estiolamento (FIGURA 1).

Tabela 2 - Acúmulo de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* cultivadas por 40 dias sob diferentes espectros de luz. MSF: matéria seca foliar; MSC: matéria seca do caule; MSR: matéria seca da raiz; MST: matéria seca total.

Espectros de Luzes	MSF	MSC	MSR	MST
mg.....			
Azul (A)	55,50 a	55,50 b	108,73 d	188,98 d
Vermelho (V)	67,90 a	29,68 b	132,50 c	230,08 c
Verde	56,30 a	30,68 b	112,70 d	199,35 d
Branco	68,33 a	52,08 a	178,95 a	299,35 a
50%V:50%A	70,53 a	25,33 b	154,95 b	250,78 b
30 % V:70%A	67,68 a	43,18 a	159,20 b	270,05 b
70%V:30%A	67,10 a	48,30 a	156,30 b	271,70 b
CV%	9,86	24,31	23,19	13,79

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

Yu *et al.* (2021) reportaram que os espectros de luzes vermelhas, azuis e brancas influenciaram no crescimento de *Pteris aspericaulis*, onde a luz vermelha promoveu alongamento do pecíolo, a luz azul inibiu. Hung *et al.* (2016) cultivando *Vaccinium ashei* Reade *in vitro*, mostraram que a combinação de luz vermelho (80%) com azul (20%) promoveu maior crescimento em relação a combinação de vermelho (50%) e azul (50%) ou lâmpadas fluorescentes (controle). Luz vermelha e azul promovem o alongamento de plântulas de rúcula e mostarda micropropagadas, mas tais efeitos irão depender da intensidade de luz dentro do espectro de luz (JOHNSON; KONG; ZHENG 2020).

Figura 1 - Plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) cultivadas em meio MS sob diferentes espectros de luz aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021.



Fonte: Do autor (2021).

3.2 Análises de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos

Os espectros de luzes afetaram os pigmentos fotossintéticos das plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro* (TABELA 3). Teores de clorofila a, b, total e carotenoides foram estatisticamente iguais nas plantas cultivadas sob luz verde e combinação de 70%V:30%A, exceto para a clorofila b (TABELA 3).

A luz verde consegue penetrar no dossel das plantas pela sua alta transmitância e refletância nas folhas, podendo aumentar a interceptação da luz e fotossíntese na planta inteira. Sendo assim, a luz verde induz respostas para evitar a sombra e regular o metabolismo da planta (DOU; NIU; GU, 2019). Plântulas de *Aeollanthus suaveolens* cultivadas em luz verde apresentou altos teores de clorofila a, b e carotenóides (ARAÚJO *et al.*, 2021). A luz verde LED também proporcionou aumento de clorofila e carotenoides em plântulas de *Achillea millefolium* L. (ALVARENGA *et al.*, 2015).

Os espectros monocromáticos azul e vermelho e combinações 50%V:50%V e 30%:70%A não favoreceram a produção de pigmentos fotossintetizantes em serralha. Jung *et al.* (2021) reportaram que o espectro de luzes vermelha e azul promovem fortes efeitos na

fotossíntese, impulsionando melhor funcionamento dos estômatos, fototropismo, fotomorfogênese e níveis de pigmento fotossintético. A combinação da luz vermelha e azul proporcionou maior teor de clorofila em plântulas de *Camellia oleifera* Huajin (HE *et al.*, 2020).

Os compostos fenólicos tiveram efeitos significativos nos diferentes espectros de luz (TABELA 3). As plântulas cultivadas sob a luz branca LED apresentaram os melhores valores para CFT.

Tabela 3 - Concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais (CFT) de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes espectros de luzes, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021.

Espectros de luzes	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides	CFT
mg g ⁻¹				(mg EAG.g ⁻¹)
Azul (A)	0,89 c	0,23 d	1,13 c	0,20 c	59,958 e
Vermelho (V)	0,73 c	0,20 d	0,94 c	0,18 c	66,656 d
Verde	1,45 a	0,38 a	3,84 a	0,33 a	55,548 f
Branco	0,86 c	0,23 d	1,09 c	0,21 c	96,357 a
50% V:50% A	1,07 b	0,28 c	1,35 b	0,25 b	84,395 b
30% V:70% A	0,83 c	0,23 d	1,07 c	0,19 c	82,188 b
70% V:30% A	1,40 a	0,33 b	1,73 a	0,31 a	78,332 c
CV%	11,60	11,08	11,26	9,99	2,38

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. CFT: compostos fenólicos totais expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de matéria seca de folha.

Fonte: Do autor (2021).

Determinado comprimento de onda espectral pode aumentar a atividade enzimática na planta e, conseqüentemente, aumenta o sistema de defesa celular, protegendo a planta contra danos oxidativos. Sendo assim, diferentes espécies de plantas respondem de forma distinta a cada espectro de luz no cultivo de plantas *in vitro* (JUNG *et al.*, 2021).

A luz branca seguida da combinação de azul e vermelho apresentaram maiores teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante comparado aos demais espectros de luz em plântulas de serralha *in vitro*. A luz branca é composta pelo vermelho, amarelo e azul as quais formam todos os espectros de luz (GALVÃO. MENEZES, 2016), que podem ativar a produção de compostos fenólicos em plântulas de *Sonchus oleraceus*.

A utilização de luzes vermelha e azul apresentaram altas concentrações de compostos fenólicos de manjeriço (DOU; NIU; GU, 2019). As luzes vermelha e azul podem diminuir os

impactos de danos causados pelo estresse oxidativo em *Codonopsis lanceolata*. A interação das luzes LEDs branco, vermelho e azul aumentaria a produtividade e potencial fotossintética, tornando o uso total da energia da luz e diminuindo possíveis danos causados por tensões oxidativas, resultando em uma maior produção de compostos fenólicos (REN *et al.*, 2018).

4 CONCLUSÃO

Os espectros de luzes afetaram o ganho de matéria seca das plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro*. O cultivo das plântulas sob a luz branca LED obteve os maiores valores de matéria seca de folha, caule, raiz e total seguido do espectro de 70% V:30% A. Nos espectros monocromáticos vermelhos e verdes as plântulas tiveram uma tendência de estiolamento. A luz verde apresentou maiores teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides seguida pela combinação de 70% V:30% A. As plântulas cultivadas sob a luz branca LED apresentaram os melhores valores para compostos fenólicos totais.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, I. C. A. *et al.* *In vitro* culture of *Achillea millefolium* L.: quality and intensity of light on growth and production of volatiles. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 122, n. 2, p. 299-308, 2015.
- ARAÚJO, D. X. *et al.* Photon flux density and wavelength influence on growth, photosynthetic pigments and volatile organic compound accumulation in *Aeollanthus suaveolens* (Catinga-de-mulata) under *in vitro* conditions. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 168, p. 113-597, 2021.
- CARVALHO, A. A. *et al.* Influence of light spectra and elicitors on growth and ascaridole content using *in vitro* cultures of *Dysphania ambrosioides* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 143, n. 2, p. 277-290, 2020.
- CASIERRA-POSADA, F.; PEÑA-OLMOS, J. E. Modificaciones fotomorfogénicas inducidas por la calidad de la luz en plantas cultivadas. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, [s.l.], v. 39, p. 84-92, 2015.
- CIOĆ, M.; PAWŁOWSKA, B. Leaf Response to Different Light Spectrum Compositions during Micropropagation of *Gerbera* Axillary Shoots. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, n. 11, p. 1832, 2020.
- COELHO, A. D. *et al.* Wavelength and light intensity enhance growth, phytochemical contents and antioxidant activity in micropropagated plantlets of *Urtica dioica* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 145, n. 1, p. 59-74, 2021.
- DI, Q. *et al.* Combination of Red and Blue Lights Improved the Growth and Development of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Seedlings by Regulating Photosynthesis. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], p. 1-16, 2020.
- DOU, H.; NIU, G.; GU, M. Photosynthesis, morphology, yield, and phytochemical accumulation in basil plants influenced by substituting green light for partial red and/or blue light. **HortScience**, [s.l.], v. 54, n. 10, p. 1769-1776, 2019.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A Computer Analysis System to Fixed Effects Split Plot Type Designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- GALVÃO, R.; MENEZES, J. F. S. O Incrível Mundo dos Materiais Porosos. *Química Nova. Breve Discussão Histórica sobre a “Descoberta” dos Lantanídeos e sua Relação com as Teorias de Luz e Cores de Maxwell e Einstein.* São Paulo: IUPAC, 2016. V. 38.
- HE, C. *et al.* Light quality affects the proliferation of *in vitro* cultured plantlets of *Camellia oleifera* Huajin. **PeerJ**, [s.l.], v. 8, p. e10016, 2020.
- HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. Different methods of chlorophyll extraction. **Can. J. Bot.**, [s.l.], v. 57, n. 1332-1332, 1979.

HUNG, C. D. *et al.* *In vitro* proliferation and ex vitro rooting of microshoots of commercially important rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) using spectral lights. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 211, p. 248-254, 2016.

JOHNSON, R. E.; KONG, Y.; ZHENG, Y. Elongation growth mediated by blue light varies with light intensities and plant species: A comparison with red light in arugula and mustard seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 169, p. 103898, 2020.

JUNG, W-S. *et al.* Application of Light-Emitting Diodes for Improving the Nutritional Quality and Bioactive Compound Levels of Some Crops and Medicinal Plants. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 5, p. 1477, 2021.

MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes**. Campinas: FMC Agricultural Products, 2011.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

REN, X. *et al.* Supplementary light source affects the growth and development of *Codonopsis lanceolata* seedlings. **International JOURNAL of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 10, p. 3074, 2018.

SINGH, D. *et al.* LEDs para iluminação de estufa com eficiência energética. **Revisões de Energia Renovável e Sustentável**, [s.l.], v. 49, p. 139-147, 2015.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 144-158, 1965.

WELLBURN, R. W. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

YU, R. *et al.* *In vitro* regeneration of the colorful fern *Pteris aspericaulis* var. *tricolor* via green globular bodies system. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, [s.l.], v. 57, n. 2, p. 225-234, 2021.

CAPÍTULO 4 SISTEMAS DE VENTILAÇÃO NATURAL NO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA DE *SONCHUS OLERACEUS* I.

RESUMO

A serralha (*Sonchus oleraceus*) é uma planta mundialmente conhecida pelas suas características nutricionais, atividades antioxidantes e compostos fenólicos. O presente estudo teve o objetivo de determinar a eficiência de sistemas de vedação dos frascos no crescimento da serralha *in vitro*, comparado com tampas de vedação convencional, em respostas à acúmulo de matéria seca, pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos. Foram utilizados segmentos nodais com um par de folha, cultivados em quatro sistemas de ventilação: sistema convencional (SC), sistema de ventilação com membrana microporosa na tampa com um furo (SVN1), com dois furos (SVN2) e com quatro furos (SVN4). Após 40 dias avaliou-se o número de folhas, matéria seca da folha, do caule e da raiz, análise de pigmentos fotossintéticos, compostos fenólicos e antioxidantes. O sistema de ventilação natural com as membranas porosas influencia no crescimento de *Sonchus oleraceus in vitro*. No sistema de ventilação com quatro membranas porosa (SVN4), as plântulas obtiveram os maiores valores para número de folha e acúmulo de matéria seca (MSF, MSC, MSR e MST), pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenóides) e teores de compostos fenólicos. Desse modo, os resultados apontaram que as plântulas de *Sonchus oleraceus* possui um melhor desenvolvimento no sistema de ventilação com quatro membranas (SVN4).

Palavras-chaves: Serralha, Trocas gasosa, Plantas micropropagadas.

ABSTRACT

The sowthistle (*Sonchus oleraceus*) is a plant known worldwide for its nutritional characteristics, antioxidant activities and phenolic compounds. The present study aimed to determine the efficiency of flask sealing systems on the growth of saw palmetto *in vitro*, compared to conventional sealing caps, in responses to dry matter accumulation, photosynthetic pigments and phenolic compounds. Nodal segments with one leaf pair were used and grown in four ventilation systems: conventional system (SC), ventilation system with microporous membrane in the lid with one hole (SVN1), with two holes (SVN2) and with four holes (SVN4). After 40 days, the number of leaves, leaf, stem and root dry matter, photosynthetic pigment analysis, phenolic and antioxidant compounds were evaluated. The natural ventilation system with porous membranes influences the growth of *Sonchus oleraceus in vitro*. In the ventilation system with four porous membranes (SVN4), the seedlings obtained the highest values for leaf number and dry matter accumulation (MSF, MSC, MSR and MST), photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids) and phenolic compounds contents. Thus, the results indicated that *Sonchus oleraceus* seedlings have a better development in the four membrane ventilation system (SVN4).

Key-words: Sowthistle. Gas exchange. Micropropagated plants.

1 INTRODUÇÃO

A serralha (*Sonchus oleraceus* L.) é uma planta mundialmente conhecida pelas suas características nutricionais, medicinais e suas propriedades antioxidantes (MANALIL; ALI; CHAUHAN, 2019). Consumida em várias regiões brasileiras, pertence à família Asteraceae, originária da Europa e bem adaptada ao território nacional devido sua rusticidade. O seu consumo vem crescendo devido seu paladar levemente amargo e suas propriedades nutraceuticas (EMBRAPA, 2017). A *Sonchus oleraceus* possui um grande potencial para o consumo, pelo fato de suas folhas apresentarem compostos fenólicos (AL JUHAIMI *et al.*, 2017).

A micropropagação de plântulas de *Sonchus oleraceus* possibilita gerar informações de seu cultivo, que pode ser utilizado em outras pesquisas. A cultura de tecidos é uma técnica que permite a multiplicação clonal rápida de plantas oriundo de um único explante, e possibilita extração de metabólitos secundários (MORAIS *et al.*, 2012).

Plantas micropropagadas possuem um alto índice de mortalidade, podendo ser explicado pelo acúmulo de etileno e baixas concentrações de CO₂ no interior no ambiente *in vitro* das plantas. O uso de sistemas de ventilação é uma alternativa utilizada para ocorrer a troca gasosa entre o ambiente *in vitro* e *ex vitro*. Esses sistemas de ventilação reduzem a quantidade de etileno e aumentam as concentrações de CO₂ no interior do cultivo *in vitro* favorecendo o crescimento das plantas (ZOBAYED; ARMSTRONG; ARMSTRONG, 2002).

A utilização de membranas permite a troca gasosa, assim, diminui o teor de umidade relativa no interior dos frascos com baixo teor ou ausência de sacarose no meio de cultura, as plantas aumentam a taxa fotossintética, tornando as mesmas fotoautotrofia (XIAO; NIU; KOZAI, 2011; IAREMA *et al.*, 2012). Esses sistemas de vedação possuem impacto positivo no crescimento e desenvolvimento de plantas micropropagadas (MOLINARI *et al.*, 2020); resultando em plantas com maior comprimento, maior número de folhas e maiores valores de pesos frescos e secos (BATISTA *et al.*, 2016).

Plantas micropropagadas sofrem estresses pelas condições no interior dos frascos de cultivo (ZOBAYED; ARMSTRONG; ARMSTRONG, 2002). Condições ambientais que promovam um grau de estresse em plantas podem afetar a produção de metabólitos secundários que refletem uma interface química entre as plantas e o ambiente. Sendo assim, a produção desses metabólitos pode promover variações no conteúdo total e proporções relativas dos

metabólitos secundários nas plantas (BARBOSA *et al.*, 2010). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo determinar a eficiência de sistemas de vedação dos frascos no crescimento da serralha *in vitro*, comparado com tampas de vedação convencional, em respostas a análise de crescimento, pigmentos fotossintéticos, compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização experimental

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais no Departamento de Agricultura, e análises químicas foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA), localizada na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, com 918 m de altitude.

2.2 Germinação e estabelecimento *in vitro*

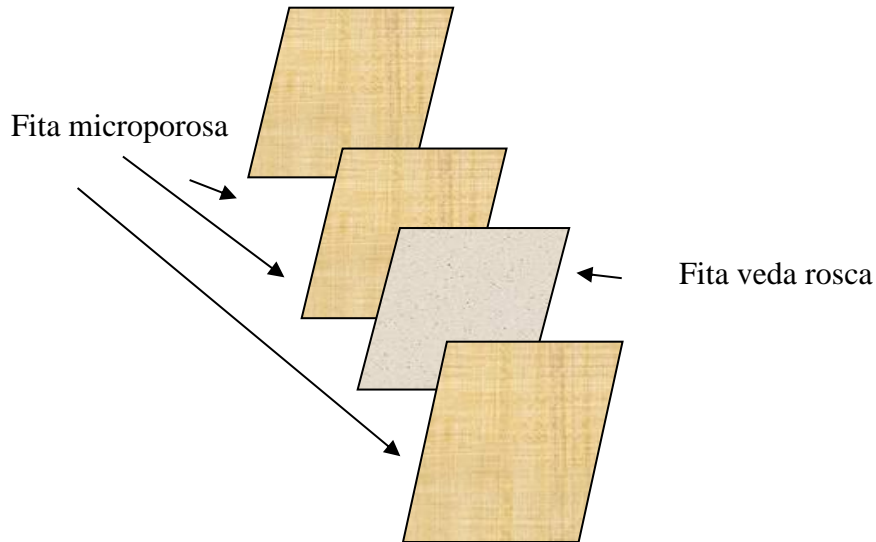
Sementes de *Sonchus oleraceus* foram obtidas da coleção de germoplasma de hortaliças não convencionais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Em câmara de fluxo, as sementes foram transferidas para um recipiente contendo álcool 70%, sendo agitadas por 1 minuto. Posteriormente, foram transferidas para hipoclorito a 2% na proporção 1/1 de água, agitado manualmente em um período de 15 minutos, e lavadas três vezes com água destilada autoclavada. Após a assepsia, as sementes foram transferidas para tubos de ensaio (25x150 mm) contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7± 0,1 e autoclavado a 120°C e 1 atm, por 20 minutos. As sementes foram germinadas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h luz/ 8h escuro, sob intensidade luminosa de 42 μmol m⁻² s⁻¹, à temperatura de 26±1 °C. Depois de 40 dias de estabelecimento, as plântulas foram repicadas utilizando explante de segmento nodal.

2.3 Delineamento experimental

No experimento de SVN, os explantes foram inoculados em frascos de vidro (250 mL) contendo 40 ml de meio MS sem a suplementação de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7±0,1 e autoclavado a 120 °C e 1 atm, por 20 minutos. Utilizando membranas porosas nas tampas que permite a troca gasosa, feitas com fita veda rosca Amanco®

e fita microporosa bege Cremer®, de acordo com a metodologia de Saldanha *et al.* (2012). De acordo o esquema a seguir (FIGURA 1).

Figura 1 – Esquema feito com fita veda rosca Amanco® e fita microporosa bege Cremer®,



Fonte: Saldanha *et al.* (2012).

O experimento foi realizado em quatro sistemas de ventilação: sistema convencional (SC), sistema de ventilação natural com membrana microporosa na tampa com um furo (SVN1), com dois furos (SVN2) e com quatro furos (SVN4). Cada furo possui um diâmetro de um cm e foi preenchido com as membranas porosas. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) contendo dez frascos para cada sistema de vedação, contendo quatro segmentos por frasco. Os explantes utilizados foram de segmento nodal aproximadamente com um cm de comprimento e um par de folhas. Em seguida, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h luz/ 8h escuro, sob intensidade luminosa de $42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, à temperatura de $26 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

2.4 Variáveis analisadas

As variáveis respostas analisadas no experimento foram avaliações agronômicas, análise de teores de pigmentos fotossintetizantes, compostos fenólicos totais.

2.4.1 Avaliações agronômicas

O material vegetal fresco foi transferido para sacos de papel kraft e acondicionado em estufa de circulação forçada de ar, a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, até peso constante. Em seguida, as massas (g) foram mensuradas em balança de precisão. Para o número de folhas, as mesmas foram divididas em três tamanhos: pequena ($> 1,5\text{ cm}$), média (1 a $1,5\text{ cm}$), grande ($> 1,5\text{ cm}$).

2.4.2 Análise de pigmentos fotossintetizantes

Os teores de pigmentos fotossintetizantes foram mensurados a partir de 50 mg de folha fresca sem nervura. Os pigmentos foram extraídos com 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3) em tubos de Falcon revestidos com papel alumínio e mantidos em estufa de circulação forçada por 48 h na temperatura de $65\text{ }^{\circ}\text{C}$, de acordo a metodologia de Hiscox e Israelstam (1979). Para cada tratamento foi preparada uma amostra branca. A leitura foi feita em cubeta de quartzo no comprimento de onda de 480 (carotenóides), 649 (clorofila *a*) e 665 (clorofila *b*) nm no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, contra o branco. As amostras preparadas em triplicatas.

A determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenóides utilizou-se as equações propostas por Wellburn (1994): Clorofila *a* = $(12,47 \times A_{665}) - (3,62 \times A_{649})$; clorofila *b* = $(25,06 \times A_{649}) - (6,5 \times A_{665})$; carotenóides: $(1000 \times A_{480} - 1,29 \times Ca - 53,78 \times Cb)/220$. Para determinar a clorofila total foi realizada a soma dos resultados das equações de clorofila *a* e *b*. Todos os resultados foram expressos em mg g^{-1} .

2.4.3 Análises de compostos fenólicos

2.4.3.1 Preparo dos extratos e condições gerais

Folhas secas foram trituradas em moinho de facas e tamisada em peneira de 20 mesh. Para microtubos foram transferidos 50 mg de folhas secas trituradas e 2 mL de $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ (1:1), os microtubos foram agitados individualmente por 5 segundos, em vortex para homogeneização do material e posteriormente submetidos à extração por sonicação por 15 minutos. Após a sonicação, o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos. O

sobrenadante foi recolhido e armazenado. Esse processo foi realizado por três vezes. As leituras de absorção molecular no ultravioleta foram mensuradas na leitora de microplacas TECAN INFINITY M200 PRO, operada com o sistema de processamento de dados I-control ® versão 3.37. As amostras foram preparadas em quintuplicata.

2.4.3.2 Doseamento de compostos fenólicos totais

A dosagem de compostos fenólicos totais foi feita pelo método de Folin Ciocalteau, com modificações (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em microplacas de 96 poços, foram adicionados 50 µL da amostra, 100 µL de solução etanólica de Folin-Ciocalteau (10%) e após 2 min de reação, foi adicionado 125 µL de Na₂CO₃ (7,0%). As amostras foram mantidas por 20 minutos no escuro à temperatura ambiente, para posterior leitura. A absorbância foi lida a 760 nm. A curva de calibração foi constituída com padrão ácido gálico (Sigma-Aldrich, 98%) na faixa de 0,7188 a 1,2316 mg mL⁻¹, gerando a equação $y = 2,2178 x - 0,1251$ (R² = 0,9986). A partir da equação da reta, calculou-se o acúmulo dos compostos fenólicos totais, sendo os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de matéria seca de folha (mgEAG gMSF⁻¹).

2.5 Análise estatísticas

Após as avaliações dos experimentos, os dados foram coletados e submetidos a análise de variância, cujas médias foram comparadas entre si usando o teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de crescimento

O número e o tamanho de folhas das plântulas de *Sonchus oleraceus* foi influenciado pelo SVN (TABELA 1). O sistema convencional sem membrana (SV) e (SVN1) afetou drasticamente a emissão e o tamanho foliar das plântulas. Os explantes cultivados com quatro membranas (SVN4) induziram maior número e tamanho de folhas. O sistema de vedação contendo quatro membranas (SVN4) proporciona maior troca gasosa entre o ambiente *in vitro* e *ex vitro*, reduzindo os teores etileno no meio interno do frasco e aumentando as concentrações de CO₂ no interior do cultivo *in vitro* favorecendo a emissão e expansão foliar.

Tabela 1 - Número de folhas de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes sistemas de ventilação natural (SVN), sistema convencional (SC), com uma membrana (SVN1), com 2 (SVN2) e com 4 (SVN4) aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021.

Número de membranas	Folhas > 1,5 cm	Folhas 1 a 1,5 cm	Folhas <1 cm	Total de folhas
SC	1,80 c	7,00 c	56,40 b	65,20 d
SVN1	9,20 b	12,00 b	52,20 c	73,40 c
SVN2	10,40 b	10,80 b	68,40 a	89,60 b
SVN4	13,20 a	19,60 a	69,80 a	102,60 a
CV%	18,64	13,73	3,67	3,83

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

Oliveira *et al.* (2021) reportaram que o cultivo *in vitro* de *Mentha arvensis* com quatro membranas no frasco proporcionou maiores comprimentos de folha. Batista *et al.* (2016), trabalhando com pimenta ornamental utilizando o sistema de ventilação nas tampas obtiveram folhas expandidas e plântulas mais altas e vigorosas. Martins *et al.* (2020) demonstraram que as plântulas cultivadas em sistema de ventilação não apresentam distúrbios anatômicos e, assim, a espessura das folhas e deposição de lignina e suberina na parede celular da exoderme foram alteradas.

O sistema de ventilação natural com o uso de diferentes números de membranas afetou a matéria seca da plântula (TABELA 2). O sistema de ventilação com quatro (SVN4) membranas favoreceu os maiores valores de matéria seca de folha (MSF), caule (MSC), raiz

(MSR) e total (MST) seguida pelo uso de SVN2. O cultivo das plântulas livre de açúcar e utilizando maior número de membrana favorecem a maior troca de gases e maior concentração de CO₂ e assim, proporciona um maior ganho de biomassa. Na Figura 2 observa-se o crescimento das plântulas, onde o uso de quatro membranas proporcionou maior tamanho da parte aérea e do sistema radicular.

Sistemas de vedação que permitem trocas gasosas possuem impacto positivo no crescimento e desenvolvimento de plântulas micropropagadas (MOLINARI *et al.*, 2020). Batista *et al.* (2016) reportaram que plântulas de pimenta ornamental obtiveram maiores valores de comprimento, pesos frescos e secos no sistema de ventilação. O cultivo de plantas micropropagadas de *Cattleya nobilior* em sistemas de ventilação convencional promoveu perfilhamento, mas em sistemas de vedação natural aumentou o diâmetro do pseudobulbo, altura da planta e maior comprimento da folha (FREITAS *et al.*, 2021). O sistema de ventilação com quatro membranas microporosas, indicou maior acúmulo de biomassa seca e área foliar nos cultivos *in vitro* de *Lippia gracilis Schauer* (LAZZARINI *et al.* 2019).

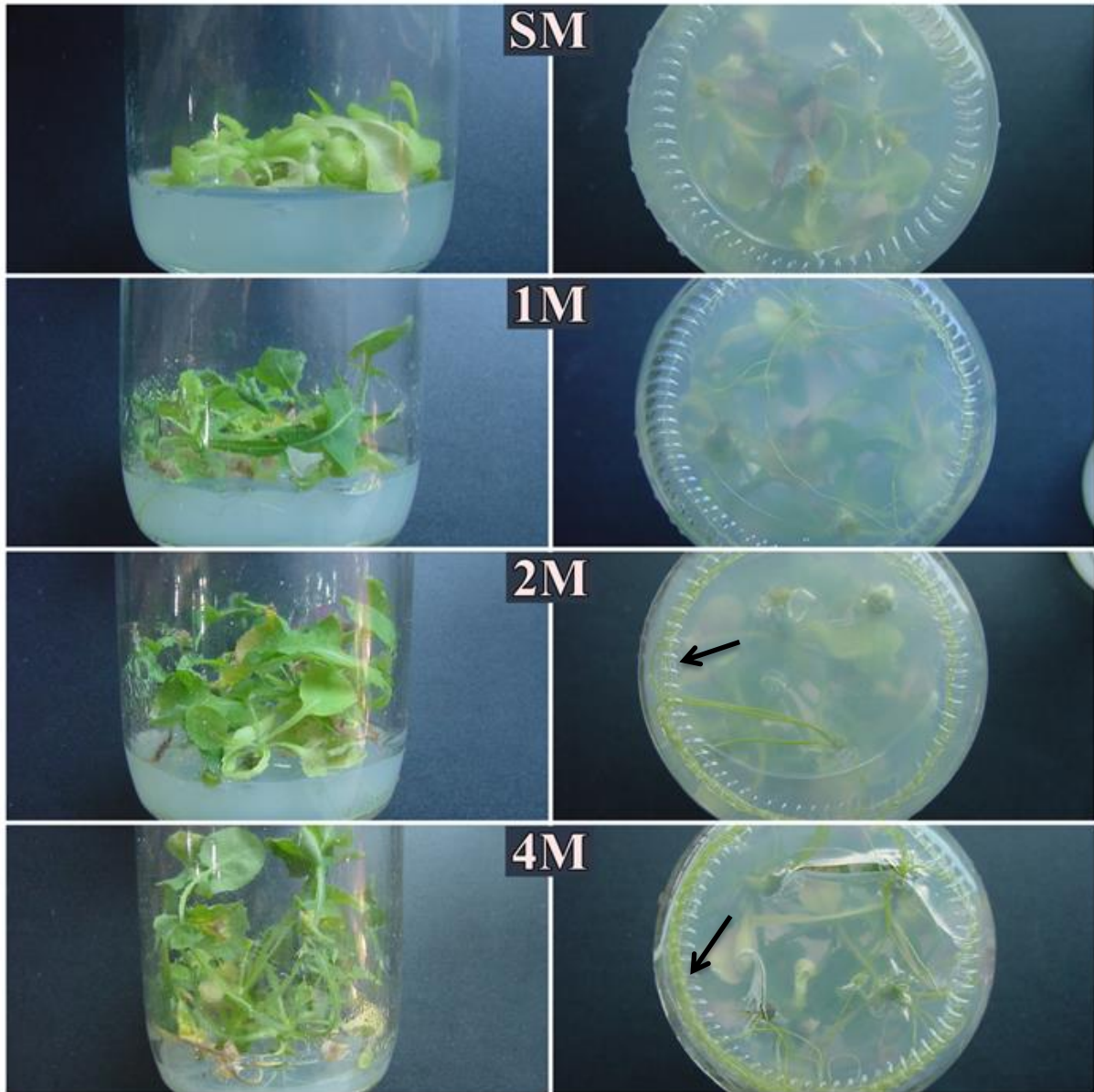
Tabela 2 - Acúmulo de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* cultivadas por 40 dias sob sistemas de ventilação natural (SVN) e convencional (SC). MSF: matéria seca foliar; MSC: matéria seca do caule; MSR: matéria seca da raiz; MST: matéria seca total.

Número de membranas	MSF	MSC	MSR	MST
mg.....			
SC	103,08 c	28,92 d	02,88 d	134,88 d
SVN1	183,02 b	41,14 c	07,12 c	231,28 c
SVN2	203,02 b	46,24 b	27,38 a	276,64 b
SVN4	302,68 a	58,94 a	19,48 b	381,10 a
CV%	10,43	14,22	17,86	9,12

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

Figura 2 - Plântulas de Serralha (*Sonchus oleraceus*) oriundas de segmentos nodais cultivados em meio MS em diferentes sistemas de vedação sem sacarose aos 40 dias. UFLA – Lavras, 2021. Seta mostra raízes.



Fonte: Do autor (2021).

3.2 Análises de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos

O sistema de ventilação natural com membranas porosas influenciou significativamente os pigmentos fotossintéticos de *Sonchus oleraceus* (TABELA 3). As plântulas cultivadas nos frascos com quatro membranas porosas (SVN4) obtiveram os maiores valores para clorofila *a*, *b*, total e carotenoides no sistema fotoautotrófico. Com este aumento, as plântulas puderam

realizar maior fotossíntese e, conseqüentemente, um maior ganho de matéria seca (TABELA 2).

As condições que permitem a entrada de carbono nos frascos de plântulas micropropagadas levaram um aumento no crescimento. Iarema *et al.* (2021) reportaram que na ausência de sacarose no meio de cultura, as plantas aumentaram a taxa fotossintética, tornando as mesmas fotoautotróficas. Plântulas de *Pitcairnia encholirioides* cultivadas em tubos sem ventilação apresentaram menor acúmulo de pigmentos fotossintéticos (RESENDE *et al.*, 2016). Batista *et al.* (2016) demonstraram que plântulas de pimenta ornamental cultivadas com sistema de ventilação proporcionaram crescimento mais vigoroso, aumento nos teores de pigmentos fotossintéticos e estruturas anatômicas distintas.

Os teores de compostos fenólicos foram afetados significativamente pelo sistema de ventilação natural (SVN) de plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro* (TABELA 3). As plântulas cultivadas em frasco utilizando quatro (SVN4) e duas (SVN2) membranas porosas obtiverem os maiores valores para CFT por apresentar maiores concentração de CO². O sistema de ventilação convencional (SC) sem uso de membranas porosas obteve os menores valores.

Tabela 3 - Concentração de pigmentos fotossintéticos e compostos fenólicos totais (CFT) de plântulas de serralha (*Sonchus oleraceus*) *in vitro* sob diferentes sistemas de ventilação natural, aos 40 dias. UFLA - Lavras, 2021.

Número de membranas	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total	Carotenoides	CFT (mg EAG.g ⁻¹)
mg g ⁻¹				
	1.....				
SC	1,35 b	0,35 b	1,71 b	0,28 b	60,350 b
SVN1	1,37 b	0,34 b	1,71 b	0,29 b	60,289 b
SVN2	1,23 b	0,29 b	1,52 b	0,26 b	53,278 c
SVN4	1,75 a	0,43 a	2,19 a	0,37 a	67,459 a
CV%	18,17	16,99	17,77	17,47	4,89

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. CFT: compostos fenólicos totais expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de matéria seca de folha.

Fonte: Do autor (2021).

A composição gasosa de plantas *in vitro* pode afetar severamente o cultivo de muitas espécies vegetais (ZOBAYED, 2005). Plantas na presença de altas concentrações de CO², alteram seu metabolismo aumentando a produção de compostos fenólicos (NETO; LOPES, 2007). Ziska *et al.* (2008) também constataram que houve aumento de produtos secundários de *N. tabacum*, *Datura stramonium* e *Papaver setigerum*, sob maiores concentrações de CO².

Mudanças nas características anatômicas das plântulas podem interferir na absorção dos minerais no meio (MARTINS *et al.* 2020). Essas alterações podem trazer benefícios para as plântulas. Plântulas em seu pleno crescimento podem produzir maior teor de metabólitos secundários, como também aumentar a produção desses compostos como mecanismo de defesa.

4 CONCLUSÃO

O sistema de ventilação natural com as membranas porosas influencia no crescimento de serralha *in vitro*. No sistema de ventilação com quatro membranas porosa (SVN4), as plântulas obtiveram os maiores valores para número de folha e matéria seca (MSF, MSC, MSR e MST) e também para os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenóides). Os teores de compostos fenólicos e antioxidantes foram maiores no sistema de ventilação com quatro membranas (SVN4).

REFERÊNCIAS

- AL JUHAIMI, F.; GHAFOR, K.; AHMED, I. A. M.; BABIKER, E. E. *et al.* Comparative study of mineral and oxidative status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* leaves. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s.l.], 11, n. 4, p. 1745-1751, dec 2017.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, *et al* v. 23, p. 629-643, 2010.
- BATISTA, D. S. *et al.* Flask sealing on *in vitro* seed germination and morphogenesis of two types of ornamental pepper explants. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 47, 2016.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Hortalças não convencionais**. Hortalças tradicionais: serralha. 2017.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A Computer Analysis System to Fixed Effects Split Plot Type Designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- FREITAS, K. G. de *et al.* *In vitro* growth of *Cattleya nobilior* Rchb. f.: culture media, sealing systems and irradiance. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [s.l.], v. 51, 2021.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, [s.l.], v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- HISCOX, J.; ISRAELSTAM, G. F. Different methods of chlorophyll extraction. **Can. J. Bot**, [s.l.], v. 57, n. 1332-1332, 1979.
- IAREMA, L. *et al.* Photoautotrophic propagation of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 110, n. 2, p. 227-238, 2012.
- LAZZARINI, L. E. S. *et al.* Explant type and natural ventilation systems influence growth and content of carvacrol and thymol of *Lippia gracilis* Schauer. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 137, n. 1, p. 33-43, 2019.
- MANALIL, S.; ALI, H. H.; CHAUHAN, B. S. Interference of annual sowthistle (*Sonchus oleraceus*) in wheat. **Weed Science**, [s.l.], 68, n. 1, p. 98-103, 2019.
- MARTINS, J. P. R. *et al.* Anatomical and physiological changes of *in vitro*-propagated *Vriesea imperialis* (Bromeliaceae) in the function of sucrose and ventilated containers. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, [s.l.], v. 154, n. 1, p. 87-99, 2020.
- MARTINS, J. P. R. *et al.* Impacts of photoautotrophic, photomixotrophic, and heterotrophic conditions on the anatomy and photosystem II of *in vitro*-propagated *Aechmea blanchetiana* (Baker) LB Sm. (Bromeliaceae). **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, [s.l.], v. 56, n. 3, p. 350-361, 2020.

- MOLINARI, L. V. *et al.* Effects of chemical sterilization of the culture media, porous membranes and luminosity on *in vitro* culture of *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*. **Journal of Forestry Research**, [s.l.], [s.v.], [s.n.], p. 1-12, 2020.
- MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F. *et al.* Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, T. *et al.* The effect of alternative membrane system, sucrose, and culture methods under photosynthetic photon flux on growth and volatile compounds of mint *in vitro*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, [s.l.], v. 57, n. 3, p. 529-540, 2021.
- RESENDE, C. F. *et al.* Proline levels, oxidative metabolism and photosynthetic pigments during *in vitro* growth and acclimatization of *Pitcairnia encholirioides* LB Sm. (Bromeliaceae). **Brazilian Journal of Biology**, [s.l.], [s.v.], [s.n.], 2016.
- SALDANHA, C. W.; OTONI, C. G.; DE AZEVEDO, J. L. F.; DIAS, L. L. C. *et al.* A low-cost alternative membrane system that promotes growth in nodal cultures of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 110, n. 3, p. 413-422, 2012/09/01 2012.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 144-158, 1965.
- WELLBURN, R. W. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.
- XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 105, n. 2, p. 149-158, 05 jan. 2011.
- ZISKA, L. H.; PANICKER, S.; WOJNO, H. L. Aumentos recentes e projetados no dióxido de carbono atmosférico e os impactos potenciais no crescimento e produção de alcalóides em papoula selvagem (*Papaver setigerum* DC.). **Mudança Climática**, [s.l.], v. 91, n. 3, pág. 395-403, 2008.
- ZOBAYED, S. M. A. Ventilation in micropropagation. *In*: KOZAI, T. *et al.* (Eds). **Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new propagation and transplant production system**. 2005. *E-book*.
- ZOBAYED, S. M. A.; ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Multiple shoot induction and leaf and flower bud abscission of Annonacultures as affected by types of ventilation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 69, n. 2, p. 155-165, 01 maio. 2002.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As intensidades de 70 a 144 $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$ e o espectro de luz branca LED proporcionaram maiores valores no acúmulo de matéria seca e número de folha de plântulas de *Sonchus oleraceus in vitro*. O sistema de ventilação com quatro membranas porosa (SVN4), sem sacarose, é superior aos demais sistema de ventilação e convencional quanto aos parâmetros de crescimento e produção de matéria seca em plântulas de *Sonchus oleraceus* micropropagadas.