

# ATIVIDADE FOTOQUÍMICA MÁXIMA DO FOTOSSISTEMA II EM PLANTAS DE BATATA-DOCE CULTIVADAS IN VITRO E ACLIMATIZADAS

MAXIMUM PHOTOSYSTEM II PHOTOCHEMICAL ACTIVITY IN SWEET POTATO PLANTS *in vitro* CULTIVATED AND ACCLIMATIZED

Francine Ferreira Cassana<sup>1</sup>; Eugenia Jacira Bolacel Braga<sup>2</sup>; Marcos Antonio Bacarin<sup>2</sup>; Antelmo Ralph Falqueto<sup>3</sup> e José Antonio Peters<sup>2</sup>

## RESUMO

Plantas de batata-doce foram cultivadas *in vitro* sob quatro densidades de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (14, 21, 42 e 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e em meio MS contendo 5, 10, 20, 30 e 40  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose e aclimatizadas em casa de vegetação. Folhas originadas e desenvolvidas no meio contendo 5  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose e 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de densidade de fluxo de fótons, ao final do cultivo *in vitro* apresentaram razão  $F_v/F_m$  (eficiência fotoquímica máxima) inferior às desenvolvidas nas demais condições de cultivo. No entanto, quando aclimatizadas observou-se um aumento de  $F_v/F_m$  nestas folhas à patamares comparáveis aos demais tratamentos, evidenciando ausência de efeito residual das condições *in vitro*. Folhas desenvolvidas *in vitro*, bem como a maioria das folhas geradas *ex vitro* apresentaram valores de  $F_v/F_m$  normais, indicando que as mesmas apresentam um fotossistema II funcional.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Ipomoea batatas* L., sacarose, densidade de fluxo de fótons

## ABSTRACT

Sweet potato plants were *in vitro* cultivated under four different photosynthetic photon flux densities (14, 21, 42 and 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and in MS medium with 5, 10, 20, 30 and 40  $\text{g L}^{-1}$  of sucrose and acclimatized in green house. Leaves originated and developed in the medium containing 5  $\text{g L}^{-1}$  sucrose and 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  presented  $F_v/F_m$  (Maximum photochemical efficiency) values lower than leaves developed in other culture conditions. However, when acclimatized, these leaves increased this rate at similar level of the other treatments, evidencing absence of residual effect from *in vitro* conditions. *In vitro* developed leaves and the majority of leaves generated *ex vitro* showed normal  $F_v/F_m$  values, indicating they have a functional photosystem II.

**KEY WORDS:** *Ipomoea batatas* L., sucrose, photons flux density

## INTRODUÇÃO

A sacarose é importante fonte de carbono para tecidos ou células cultivadas *in vitro*, sendo utilizada em concentrações que normalmente variam entre 1 a 3% (MATSUMOTO et al., 1991; FLORES et al., 1999; MACHADO et al., 2004). Entretanto, alguns autores sugerem que estes níveis podem inibir a síntese de clorofila (GEORGE & SHERRINGTON, 1984) e afetar negativamente o crescimento e a expressão de genes ligados ao processo fotossintético (HDIDER & DESJARDINS, 1994; SERRET et al., 1997; LE et al., 2001), afetando assim o desenvolvimento da capacidade fotoautotrófica, podendo ocorrer crescimento reduzido e morte de mudas durante a fase de aclimatização (KOZAI, 1991a). Por

outro lado, a sacarose não pode ser eliminada do meio de cultura em cultivos heterotróficos e/ou mixotróficos, pois é requerida como fonte de carbono para o crescimento ou multiplicação dos tecidos ou células (COURNAC et al., 1991; TICHÁ et al., 1998; LE et al., 2001; FUENTES et al., 2005).

A quantidade (densidade de fluxo de fótons) e qualidade (comprimento de onda) da luz, absorvidas através de fotoreceptores, são de extrema importância para o crescimento e desenvolvimento das plantas (HANGARTER, 1997; RADMANN et al., 2001), podendo modificar características do desenvolvimento foliar, como espessura da folha, diferenciação do mesófilo, desenvolvimento vascular, divisão celular e desenvolvimento dos estômatos (GRIBAUDO & FRONDA, 1993; HAZARIKA, 2006).

Altas intensidades luminosas podem saturar o transporte de elétrons no fotossistema II em função da oxidação relativamente lenta da plastoquinona pelo complexo citocromo  $b_6/f$  (SANTABARBARA & JENNINGS, 2005). O excesso de energia de excitação absorvida pelos centros de reação pode ser dissipado através do transporte de elétrons na cadeia fotossintética para o oxigênio molecular, gerando a produção de espécies reativas de oxigênio, tais como superóxidos, oxigênio singlet e peróxidos, induzindo fotoinibição e fotodegradação dos fotossistemas (BUCHANAN et al., 2000; HEBER, 2002; STRIZH et al., 2005).

As características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons podem ser obtidas através da análise da cinética de emissão da fluorescência das clorofilas (KRAUSE & WEIS, 1991), possibilitando estudos das mudanças conformacionais dos tilacóides (KRAUSE & WEIS, 1991) e uma ampliação no conhecimento dos processos fotoquímicos e não fotoquímicos que ocorrem nos grana dos cloroplastos (ROHÁCEK, 2002; OUZONIDOU & ILIAS, 2005). Além disso, por ser um método sensível e não destrutivo, possibilita a obtenção de informações rápidas sobre os processos relacionados ao aparato fotossintético e, conseqüentemente, do estado fisiológico dos vegetais, tendo tornado-se uma importante ferramenta na investigação da fisiologia básica e aplicada (KRAUSE & WEIS, 1991; SAQUET & STREIFT, 2002; BARBAGALLO et al., 2003), permitindo também a efetiva avaliação de estresses. Dentre os vários parâmetros de fluorescência das clorofilas a empregados para detectar danos ao aparato fotossintético, a eficiência quântica fotoquímica máxima ou eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (FSII), definida pela razão  $F_v/F_m$ , onde  $F_m$  = fluorescência máxima e  $F_v$  = fluorescência variável, no estado adaptado ao escuro, constitui-se no parâmetro mais utilizado porque fornece uma indicação integrada da extensão do estresse devido a fatores como alta intensidade luminosa, baixa ou elevada disponibilidade de água ou de nutrientes (KRAUSE & WINTER, 1996; VALLADARES & PEARCY, 1997; GLYNN et al., 2003; ZANANDREA et al., 2006).

Assim, este trabalho teve como objetivo determinar a eficiência quântica fotoquímica máxima em folhas de plantas de batata-doce, ao

<sup>1</sup> Bióloga, mestre em Fisiologia Vegetal, Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas. Apoio financeiro CAPES.

<sup>2</sup> Biólogo, Dr. Em Fisiologia Vegetal, Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas. Apoio financeiro CNPq.

<sup>3</sup> Prof. Dr. Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Campus Universitário, Pelotas-RS, 96010-900. (e-mail:japeters1@hotmail.com)

término do cultivo *in vitro* e após serem transferidas para a casa de vegetação, bem como de folhas geradas *ex vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.), cv. ILS19, oriundas da cultura de ápices caulinares, foram utilizadas como material vegetal. A partir do explante inicial, foram realizadas várias multiplicações, através de segmentos nodais com cerca de 1 cm de comprimento, em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) suplementado com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de benzilaminopurina (BAP), 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, até a obtenção da quantidade de plantas necessárias para a instalação dos experimentos. Para tal fim, os segmentos nodais foram inoculados no mesmo meio de multiplicação, contendo diferentes concentrações de sacarose (5, 10, 20, 30 e 40 g L<sup>-1</sup>). Os meios foram distribuídos em erlenmeyers de 250 mL tampados com algodão, e após colocação dos explantes os frascos foram transferidos para câmara de crescimento, durante 60 dias, com fotoperíodo de 16 horas, temperaturas de 25±1°C durante o período claro e 23±1°C durante o período escuro. Os explantes foram submetidos a diferentes densidades de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (14, 21, 42 ou 60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), determinadas através de um sensor quântico (Hansatech QSRED) e fornecidas por lâmpadas fluorescentes “luz do dia especial”.

Ao término do cultivo *in vitro* foi determinada a eficiência quântica fotoquímica máxima (F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>) na segunda ou terceira folha a partir do ápice de cada planta. Posteriormente, as plantas foram transferidas para bandejas de isopor contendo substrato comercial (PlantMax®) e aclimatizadas em casa de vegetação sob temperatura e umidade controladas (23-28°C e 80%, respectivamente). Após uma semana da transferência das plantas para a casa de vegetação, foi repetida a determinação da relação F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>, na mesma folha originada da cultura *in vitro*. Três semanas após o transplante, o mesmo parâmetro foi monitorado em folhas novas, geradas *ex vitro* (segunda folha completamente expandida a partir do ápice).

Os parâmetros de fluorescência de clorofilas foram medidos, seguindo o modelo descrito por ROHÁČEK (2002), usando um fluorômetro modulado (FMS 2, Hansatech, King's Lynn, UK). Fluorescência inicial (F<sub>0</sub>) foi medida em folhas previamente adaptadas ao escuro por 20 minutos usando luz < 0,1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, e a fluorescência máxima (F<sub>M</sub>) após um pulso saturante de 0,8 s (> 3500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). A partir destes valores foi calculada a eficiência fotoquímica máxima do FSII (F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>), sendo F<sub>v</sub> a fluorescência variável estimada pela diferença entre F<sub>M</sub> e F<sub>0</sub>. Todas as determinações foram realizadas entre 09:00 e 11:00 horas da manhã.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x4, sendo cinco concentrações de sacarose e quatro densidades de fluxo de fótons realizados separadamente para as três condições de desenvolvimento foliar (folha gerada *in vitro*, folha gerada *in vitro* e aclimatizada e folha gerada *ex vitro*). Cada tratamento foi composto por quatro repetições, constituídas cada uma por um frasco contendo seis explantes, sendo realizadas cinco determinações de fluorescência das clorofilas por tratamento. Os dados foram primeiramente submetidos à análise de variância para testar as fontes de variação e suas possíveis interações e posteriormente efetuou-se a análise de regressão para a variável em estudo. As análises estatísticas foram realizadas com o software SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância observou-se uma interação dos fatores luz e concentração de sacarose nos valores da relação F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> das folhas de batata-doce cultivadas *in vitro* (Figura 1). A eficiência quântica fotoquímica máxima observada variou de 0,73 a 0,81 nas plantas cultivadas em densidades de fluxo de fótons de 14 e 21 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, não sendo verificado

efeito significativo da sacarose na menor densidade. Entretanto, verificou-se um decréscimo na relação F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> nas densidades de fluxo de fótons de 42 e 60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> quando associado ao meio de cultivo contendo 5 g L<sup>-1</sup> de sacarose. Nestas condições, os valores de F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> foram baixos, atingindo médias de 0,66 e 0,62, respectivamente (Figura 1). Estes últimos valores são similares aos obtidos por SEON et al. (2000) ao término do cultivo *in vitro* de *Rehmannia glutinosa*, sob condições heterotróficas, indicando possíveis processos de danos ao aparato fotossintético quando as plantas foram cultivadas com baixa concentração sacarose (5 g L<sup>-1</sup>) e altas densidades de fluxo de fótons.

No tratamento com maior densidade de fluxo de fótons (60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) observou-se um aumento significativo na eficiência fotoquímica máxima do FSII quando as plantas foram cultivadas com 10 g L<sup>-1</sup> e 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, mantendo-se praticamente constante nas demais concentrações deste açúcar (0,88) e acima dos resultados de F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> obtidos para as outras densidades de fluxo de fótons (Figura 1). Embora não tão acentuadamente, resultado semelhante foi observado sob densidade de 42

μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Os valores de F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> obtidos nestes tratamentos estão dentro dos preconizados como normais (0,75 e 0,85) em plantas sob condições de campo e não estressadas (SEON et al., 2000). De acordo com KADLECEK et al. (2003) carboidratos solúveis podem servir como fonte de energia para reações fotoprotetoras e processos de reparo, caso ocorra uma danificação da membrana do tilacóide devido ao excesso de densidade de fluxo de fótons. Além disso, a sacarose pode servir como fonte de energia para a síntese de uma pequena proteína “heat-shock” dos cloroplastos, que provavelmente exerceria um papel geral na proteção do FSII contra fotoinibição e estresse oxidativo (DOWNS et al., 1999).

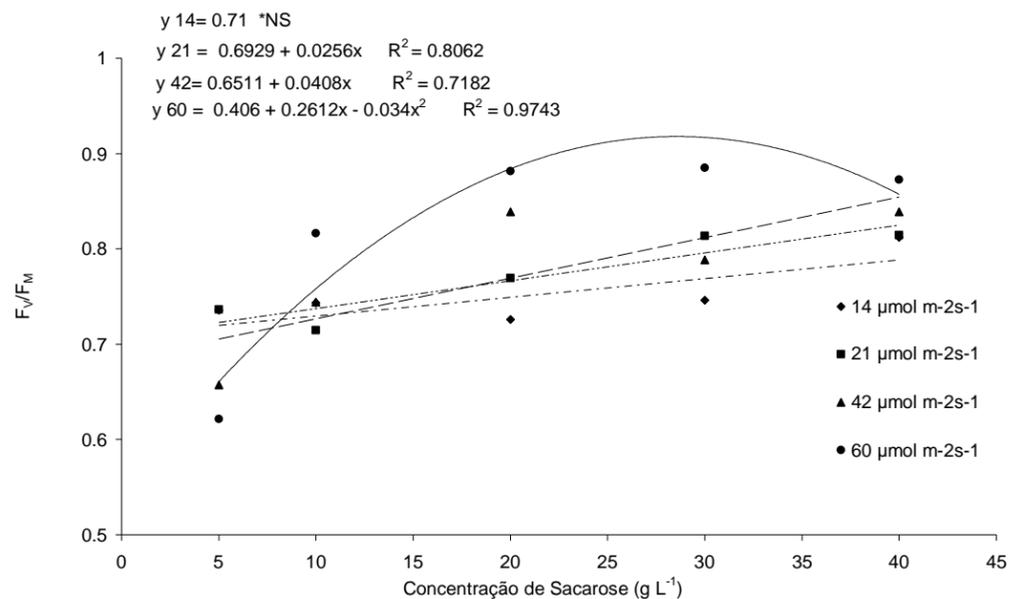
A relação F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> das folhas geradas *in vitro* e aclimatizadas durante uma semana manteve-se constante independente das concentrações de sacarose inicialmente utilizadas (Figura 2). No entanto, observou-se uma diminuição significativa, desta relação, com o aumento da densidade de fluxo de fótons a que as plantas estavam submetidas *in vitro* (Figura 3). Estes resultados são diferentes dos obtidos por SEON et al. (2000), que constataram uma diminuição gradativa da relação F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> após o transplante de plantas de *Rehmannia glutinosa* cultivadas *in vitro*, independentemente se as mesmas foram submetidas ao cultivo heterotrófico ou fotoautotrófico. Tais resultados, segundo os mesmos autores, podem ter ocorrido devido a um processo de fotoinibição relacionado às mudanças de temperatura e luz entre o cultivo *in vitro* e as condições da casa de vegetação. Já, VAN HUYLENBROECK et al. (2000) em um estudo de aclimatização com plantas de *Calathea louisae* sob diferentes densidades de fluxo de fótons (40, 120 ou 360 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), verificaram que a razão F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> diminuiu logo após o transplante das plantas, sendo que o decréscimo foi mais significativo com o aumento do fluxo de fótons, indicando possíveis efeitos fotoinibitórios. Subsequentemente, os valores de F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> foram recuperados, porém os maiores valores foram observados sempre nas plantas submetidas ao menor fluxo de fótons.

Nas folhas formadas e desenvolvidas *ex vitro* observou-se efeito significativo tanto da densidade de fluxo de fótons, quanto da concentração de sacarose a que as plantas foram submetidas durante o cultivo *in vitro*. Assim, verificou-se que aquelas originadas em plantas oriundas de densidade de fluxo de fótons de 14 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> proporcionaram os melhores resultados da razão F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>, variando entre 0,78 e 0,82, nas diferentes concentrações de sacarose (Figura 4). Resultados similares, embora levemente inferiores (0,72 a 0,75), foram obtidos em plantas oriundas de 21 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, independentemente das concentrações de sacarose utilizadas durante a cultura *in vitro*. Já, as folhas geradas em plantas submetidas à densidade de fluxo de fótons de 42 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e concentrações de 5 e 10 g L<sup>-1</sup> de sacarose, apresentaram um decréscimo da razão F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> para valores entre 0,62 e 0,65 (Figura 4), ocorrendo um aumento desta relação em plantas oriundas de meios contendo 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose (0,72) e mantendo-se constante nas demais concentrações deste carboidrato. Resultado semelhante ocorreu na combinação de baixas

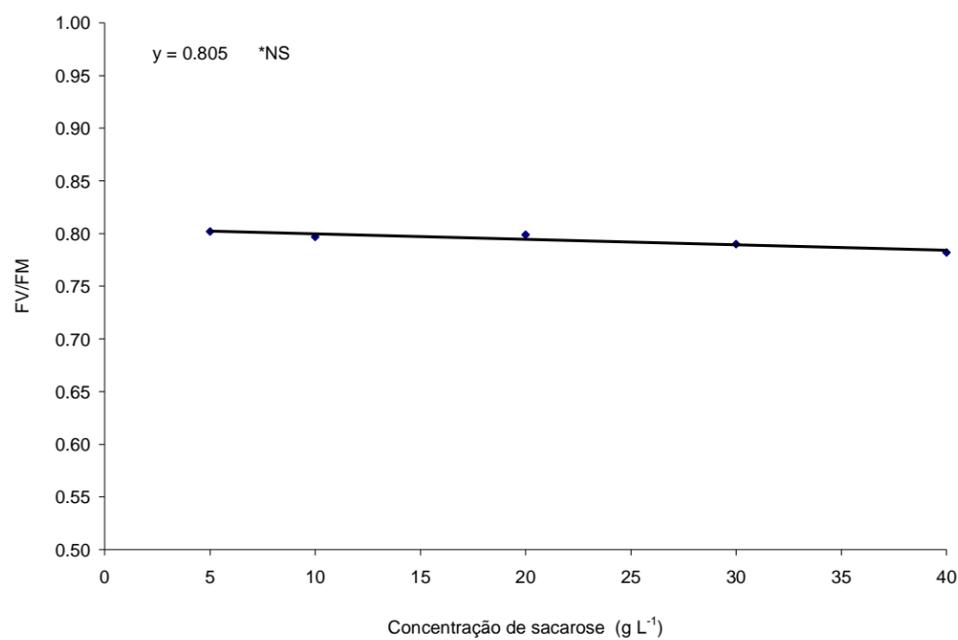
concentrações de sacarose (5 e 10 g L<sup>-1</sup>) com alta densidade de fluxo de fótons (60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) com valores de F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> de 0,63 e 0,54, respectivamente (Figura 4).

Observam-se valores altos de F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> (0,73 a 0,82), em todas as análises realizadas (Figura 1, 2 e 4), independente da origem e desenvolvimento das folhas, quando as plantas foram cultivadas sob as densidades de fluxo de fótons de 14 e 21 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. O mesmo não ocorreu quando as plantas foram submetidas a densidades de fluxo de fótons de 42 ou 60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e cultivadas em meio contendo 5 g L<sup>-1</sup> de sacarose, verificando-se um aumento da razão F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> quando as plantas

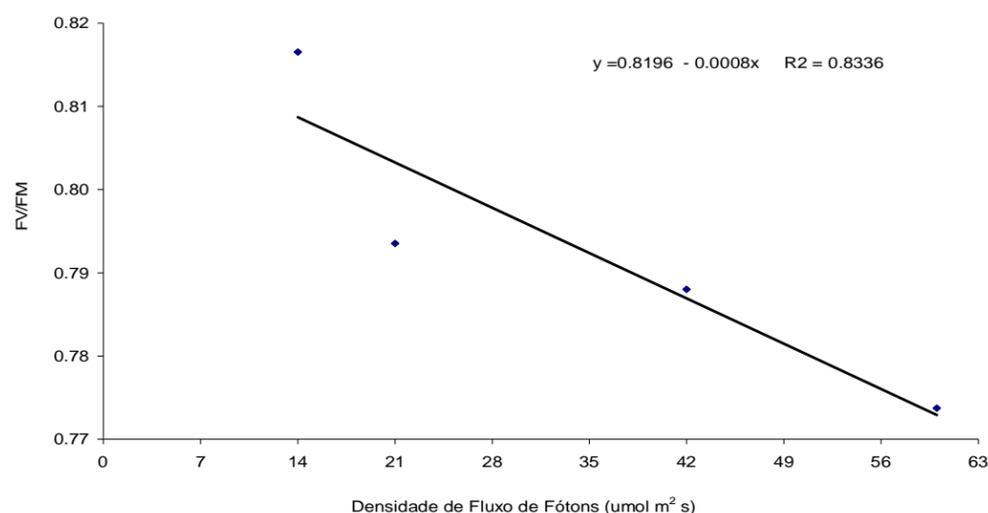
foram aclimatizadas, passando de 0,66 para 0,79 e de 0,62 para 0,80, respectivamente, em relação aos valores obtidos *in vitro* (Figura 1 e 2), ocorrendo assim uma recuperação da eficiência fotoquímica máxima das mesmas. Resultados similares aos detectados nas folhas *in vitro* foram observados nas folhas geradas *ex vitro* quando as plantas foram cultivadas sob baixa concentração de sacarose e altas densidades de fluxo de fótons (Figura 4). Outro aspecto evidenciado é que a razão F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub> das folhas geradas *in vitro* foi superior a das folhas geradas *ex vitro*, com exceção do tratamento com 14 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de densidade de fluxo de fótons (Figura 2 e 4).



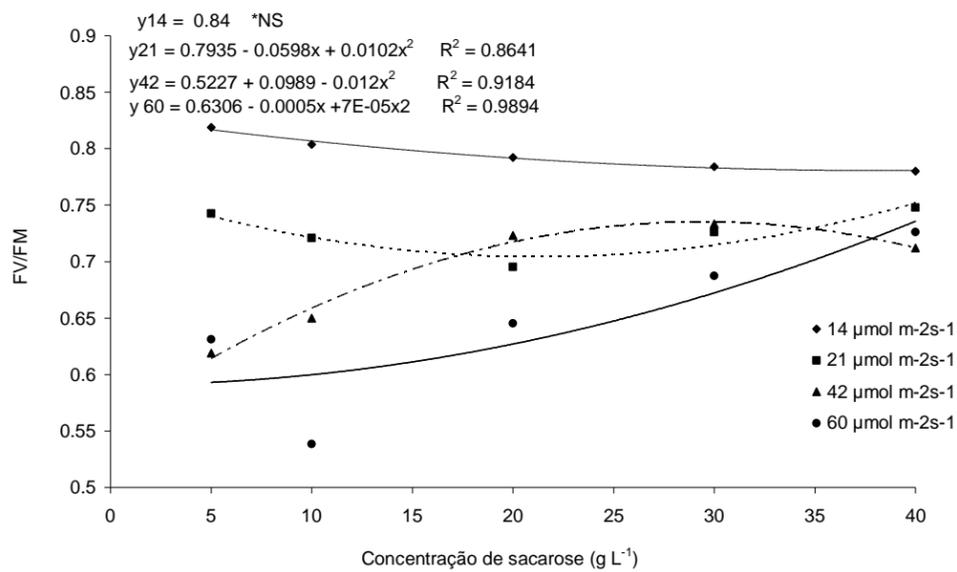
**Figura 1.** Eficiência quântica fotoquímica máxima (F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>) determinada em folhas de batata-doce geradas *in vitro*, submetidas as diferentes concentrações de sacarose e densidades de fluxo de fótons.



**Figura 2.** Eficiência quântica fotoquímica máxima (F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>) determinada em folhas de batata-doce geradas *in vitro* e aclimatizadas, submetidas a diferentes concentrações de sacarose.



**Figura 3.** Eficiência quântica fotoquímica máxima (F<sub>v</sub>/F<sub>M</sub>) determinada em folhas de batata-doce geradas *in vitro* e aclimatizadas, submetidas a diferentes densidades de fluxo de fótons.



**Figura 4.** Eficiência quântica fotoquímica máxima ( $F_v/F_M$ ) determinada em folhas de batata-doce geradas *ex vitro*, submetidas as diferentes concentrações de sacarose e densidades de fluxo de fótons.

A maioria dos valores obtidos neste trabalho para a eficiência fotoquímica máxima do FSII está de acordo com os relatados por LI et al. (2004), que estudaram a relação  $F_v/F_M$  para 99 espécies nativas de diferentes habitats da região da Mongólia, obtendo uma média de 0,72 para plantas  $C_3$  e aqueles relatados por BJÖRKMANN E DEMMING (1987), que realizaram uma compilação de inúmeros trabalhos referentes a plantas  $C_3$  e obtiveram um valor médio da relação  $F_v/F_M$  de 0,83. Conforme LICHTENTHALER et al. (2005), os valores de  $F_v/F_M$ , típico de folhas não estressadas, estão entre 0,74 e 0,85 e um declínio nesta razão indicaria uma diminuição na eficiência fotoquímica do FSII e um distúrbio ou danificação no aparato fotossintético, bem como de um aumento no processo de fotoinibição, o qual é frequentemente atribuído a danos na proteína D1 (GUO et al., 2006). Por outro lado, os baixos valores de  $F_v/F_M$  obtidos em plantas desenvolvidas em meios com baixa concentração de sacarose e sob altas densidades de fluxo de fótons são similares aos obtidos por VAN HUYLENBROECK et al. (1998), em um estudo com plantas de *Calathea louisae* submetidas a 3% de sacarose e 2% de glicose no cultivo *in vitro*. Estes autores encontraram valores de  $F_v/F_M$  de 0,66 e atribuíram este dado como indicativo de estresse. Já KADLECEK et al. (2003), trabalhando com plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) cultivadas *in vitro* com diferentes concentrações de sacarose (0, 3 ou 5%) e duas densidades de fluxo de fótons (80 ou 380  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) verificaram que as plantas crescidas fotoautotroficamente e submetidas ao alto fluxo de fótons apresentavam sintomas de fotoinibição. A ausência de sacarose associada ao alto fluxo de fótons levou a um decréscimo de  $F_v/F_M$  para 0,49, enquanto que os demais tratamentos proporcionaram valores entre 0,70 e 0,75.

Convém salientar que as plantas cultivadas *in vitro* são normalmente submetidas a condições nutricionais e físicas que, frequentemente, caracterizam condições heterotróficas e/ou mixotróficas, minimizando a capacidade fotossintética das folhas (AMÂNCIO et al., 1999; SEON et al., 2000; CARVALHO et al., 2001; LE et al., 2001). Assim, a presença de sacarose no meio de cultivo e a baixa disponibilidade de  $\text{CO}_2$  atuam negativamente na regulação de enzimas do Ciclo de Calvin, inibindo o desenvolvimento do aparato fotossintético e diminuindo a taxa fotossintética, principalmente pelo decréscimo da atividade da Rubisco (GROUT, 1988; VIÑA et al., 1999; LE et al., 2001; CARVALHO & AMÂNCIO, 2002; SEMORÁDOVÁ et al., 2002). Por outro lado, o aumento ou diminuição da densidade de fluxo de fótons influencia o desenvolvimento do mesófilo foliar, aumentando ou diminuindo o desenvolvimento dos grana e a estrutura dos cloroplastos (AMÂNCIO et al., 1999). Os fatores citados acima, aliados a alta unidade no interior dos frascos de cultura, ocasiona um retardo no desenvolvimento da cutícula, das ceras epicuticulares e no aparato funcional dos estômatos (POSPISILOVÁ et al., 1998; SEON et al., 2000), resultando em falta de

controle na taxa de transpiração cuticular e estomatal. Dessa forma, o ambiente *in vitro* pode determinar características morfológicas, anatômicas e fisiológicas anormais, dificultando o estabelecimento das plantas *ex vitro* (SEMORÁDOVÁ et al., 2002; HAZARIKA, 2006), visto que as mesmas são mais susceptíveis a vários tipos de estresses (VAN HUYLENBROECK et al., 2000). No entanto, os resultados obtidos neste trabalho mostram que sob condições adequadas de luz e meio de cultura, as folhas desenvolvidas *in vitro* apresentam um sistema adequado de absorção da energia luminosa no FSII, apresentando uma eficiência quântica fotoquímica máxima dentro dos padrões preconizados como normais, corroborando assim com as afirmativas de YUE et al. (1993), AMÂNCIO et al. (1999) e VAN HUYLENBROECK et al. (2000) que plantas desenvolvidas sob condições heterotróficas e/ou mixotróficas são potencialmente capazes de desenvolver um aparato fotossintético funcional e taxa fotossintética mensurável.

Após o transplante não foi observado efeito residual dos tratamentos que proporcionaram condições de "fotoinibição", durante o cultivo *in vitro* (Figura 2). Folhas geradas *in vitro* e aclimatizadas, bem como na maioria das folhas geradas *ex vitro* (Figura 2 e 4) apresentaram valores de  $F_v/F_M$  normais, indicando que as mesmas apresentam um FSII operacional. Segundo CARVALHO et al. (2001), um aumento da irradiância durante a aclimatização resulta numa rápida expansão de novas folhas com características autotróficas normais, melhorando as taxas de sobrevivência. Em contrapartida, a luz que excede o requerimento fotossintético pode causar fotoinibição. Segundo os mesmos autores, a extensão da fotoinibição depende do estado fisiológico da planta ditado pela prevalência das condições ambientais, a eficiência de mecanismo de proteção contra o excesso de energia e os processos de reparo para restaurar a fotossíntese.

## CONCLUSÃO

As condições de baixas concentrações de sacarose e altas densidades de fluxo de fótons determinam um decréscimo da razão  $F_v/F_M$  em plantas de batata-doce cultivadas *in vitro*, entretanto não alteram a eficiência fotoquímica máxima do Fotossistema II destas mesmas folhas após a transferência das plantas para a casa de vegetação, evidenciando que não ocorre efeito residual destes tratamentos. No entanto, o decréscimo da razão  $F_v/F_M$  em folhas geradas *ex vitro*, nestas mesmas condições, indica que as demais combinações de luz e sacarose podem proporcionar condições fisiológicas que otimizem a adaptação das plantas em casa de vegetação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMÂNCIO, S.; REBORDÃO, J.P.; CHAVES, M.M. Improvement of acclimatization of micropropagated grapevine: Photosynthetic competence and carbon allocation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.58, p.31-37, 1999.
- BARBAGALLO, R.P.; OXBOROUGH, K.; PALLETT, K.E. Rapid, noninvasive screening for perturbation of metabolism and plant using chlorophyll fluorescence imaging. **Plant Physiology**, v.132, p.485-493, 2003.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v.170, p.489-504, 1987.
- BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p.
- CARVALHO, L.; AMÂNCIO, S. Effect of *ex vitro* conditions on growth and acquisition of autotrophic behaviour during the acclimatization of chestnut regenerated *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, v.95, p.151-164, 2002.
- CARVALHO, L.C.; OSÓRIO, M.L.; CHAVES, M.M. et al. Chlorophyll fluorescence as an indicator of photosynthetic functioning of *in vitro* grapevine and chestnut plantlets under *ex vitro* acclimatization. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.67, p.271-280, 2001.
- COURNAC, L.; DIMON, D.; CARRIER, P. et al. Growth and photosynthetic characteristics of *Solanum tuberosum* plantlets cultivated *in vitro* in different conditions of aeration, sucrose supply, and CO<sub>2</sub> enrichment. **Plant Physiology**, v. 97, p.112-117, 1991.
- DOWNS, C.A.; RYAN, S.L.; HECKATHORN, S.A. The chloroplast small heat-shock protein: evidence for a general role in protecting photosystem II against oxidative stress and photoinhibition. **Journal of Plant Physiology**, v.155, p.488-496, 1999.
- FLORES, R.; LESSA, A.O.; PETERS, J.A. et al. Efeito da sacarose e do benomyl na multiplicação *in vitro* da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p.2363-2368, 1999.
- FUENTES, G.; TALAVERA, C.; DESJARDINS, Y. et al. High irradiance can minimize the negative effect of exogenous sucrose on the photosynthetic capacity of *in vitro* grown coconut plantlets. **Biologia Plantarum**, v.49, n.1, p.7-15, 2005.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant Propagation by Tissue Culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.
- GLYNN, P.; FRAQSER, C.; GILLIAN, A. Foliar salt tolerance of Acer genotypes using chlorophyll fluorescence. **Journal of Arboriculture**, v.29, p.61-65, 2003.
- GRIBAUDO, I.; FRONDA, A. L'ambientamento delle piante frutticole micropropagate. **Revista di Frutticoltura**, v.1, p.75-79, 1993.
- GROUT, B.W.W. Photosynthesis of regenerated plantlets *in vitro* and the stresses of transplanting. **Acta Horticulturae**, v.2030, p.129-135, 1988.
- GUO, Y.P.; GUO, D.P.; ZHOU, H.F. et al. Photoinhibition and xanthophylls cycle activity in bayberry (*Myrica rubra*) leaves induced by high irradiance. **Photosynthetica**, v.44, n.3, p.439-446, 2006.
- HANGARTER, R. Gravity, light and plant form. **Plant Cell Environment**, v.20, p.796-800, 1997.
- HAZARIKA, B.N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v.106, p.105-120, 2006.
- HDIDER, C.; DESJARDINS, Y. Effects of sucrose on photosynthesis and phosphoenolpyruvate carboxylase activity of *in vitro* cultured strawberry plantlets. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.1, p.27-33, 1994.
- HEBER, U. Irrungen, Wirungen? The Mehler reaction in relation to cyclic electron transport in C<sub>3</sub> plants. Minireview. **Photosynthesis Research**, v.73, p.223-231, 2002.
- KADLECEK, P.; RANK, B.; TICHÁ, I. Photosynthesis and photoprotection in *Nicotiana tabacum* L. *in vitro* grown plantlets. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p.1017-1024, 2003.
- KOZAI, T. Micropropagation under photoautotrophic conditions. In: DEBERGH, P.C; ZIMMERMAN, R.H(Eds.). **Micropropagation, Technology and Application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991a. p. 447-469.
- KRAUSE, G.H.; WINTER, K. Photoinhibition of photosynthesis in plants growing in natural tropical forest gaps: A chlorophyll fluorescence study. **Botany Acta**, v.109, p.456-462, 1996.
- KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basic. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p.313-349, 1991.
- LE, V.Q.; SAMSON, G.; DESJARDINS, Y. Opposite effects of exogenous sucrose on growth, photosynthesis and carbon metabolism of *in vitro* plantlets of tomato (*L. esculentum* Mill.) grown under two levels of irradiância and CO<sub>2</sub> concentration. **Journal of Plant Physiology**, v.159, p.599-605, 2001.
- LI, Y.G.; LI, L.H.; JIANG, G.M. Traits of chlorophyll fluorescence in 99 plants species from the sparseelm grassland in Hunshandak Sandland. **Photosynthetica**, v.42, p.243-249, 2004.
- LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RfD of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica**, v.43, n.3, p.379-393, 2005.
- MACHADO, M.P.; CARVALHO, D.C.; BIASI, L.A. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de macieira 'marubakaido' em diferentes meios de cultivo e concentrações de ácido giberélico. **Scientia Agraria**, v.5, p.69-72, 2004.
- MATSUMOTO, K.; CABRAL, G.B.; TEIXEIRA, J.B.; RECH, E.L. Embriogênese somática a partir de folhas imaturas de mandioca *in vitro*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.3, p.107-110, 1991.
- MURASHIGE, T.; SKOOG F.A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.
- OUZONIDOU, G; ILIAS, I. Hormone-induced protection of sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity. **Biologia Plantarum**, v.49, p.223-228, 2005.
- POSPÍŠILOVÁ, J.; WILHELMOVÁ, N.; SYNKOVÁ, H. et al. Acclimation of tobacco plantlets to *ex vitro* conditions as affected by application of abscisic acid. **Journal of Experimental Botany**, v.49, n.322, p.863-869, 1998.
- RADMANN, E.B.; BRAGA, E.J.B.; KARAN, M.A.L. et al. Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, p.171-175, 2001.
- ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, v. 40, n.1, p.13-29, 2002.
- ROHÁČEK, K.; BARTAK, M. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basics concepts, useful parameters, and some applications, **Photosynthetica**, v.37, p.339-363, 1999.
- SANTABARBARA, S.; JENNINGS, R.C. The size of the population of weakly coupled chlorophyll pigments involved in thylakoid photoinhibition determined by steady-state fluorescence spectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1709, p.138-149, 2005.
- SAQUET, A.A.; STREIFT, J. Chlorophyll fluorescence as a predictive method for detection of browning disorders in 'conference' pears and 'jonagold' apples during controlled atmosphere storage. **Ciência Rural**, v.32, p.571-576, 2002.
- SEMORÁDOVÁ, S.; SYNKOVÁ, H.; POSPÍŠILOVÁ, J. Responses of tobacco plantlets to change of irradiance during transfer from *in vitro* to *ex vitro* conditions. **Photosynthetica**, v.40, n.4, p.605-614, 2002.
- SEON, J.H; CUI, Y.Y.; KOZAI, T. et al. Influence of *in vitro* conditions on photosynthetic competence and survival rate of *Rehmannia glutinosa* plantlets during acclimatization period. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.61, p.135-142, 2000.
- SERRET, M.D.; TRILLAS, M.I.; MATAS, J. et al. Development of photoautotrophy and photoinhibition of *Gardenia jasminoides* plantlets during

micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 45, p.1-16, 1997.

STRIZH, I.G.; LYSENKO, G.G.; NEVEROV, K.V. Photoreduction of Molecular Oxygen in Preparations of Photosystem II under Photoinhibitory Conditions. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.52, n.6, p.717-723, 2005.

TICHÁ, I.; CÁP, F.; PACOVSKÁ, D. et al. Culture on sugar medium enhances photosynthetic capacity and high light resistance of plantlets grown *in vitro*. **Physiology Plantarum**, v.102, p.155-162, 1998.

VALLADARES, F.; PEARCY, R.W. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*. **Plant Cell Environmental**, v.20, p.25-36, 1997.

VAN HUYLENBROECK, J.M.; PIQUERAS, A.; DEBERGH, P.C. Photosynthesis and carbon metabolism in leaves formed prior and during *ex vitro* acclimatization of micropropagated plants. **Plant Science**, v.134, p.21-30, 1998.

VAN HUYLENBROECK, J.M.; PIQUERAS, A.; DEBERGH, P.C. The evolution of photosynthetic capacity and the antioxidant enzymatic system during acclimatization of micropropagated *Calathea* plants. **Plant Science**, v.155, p.59-66, 2000.

VIÑA, G.L.D.; ALFARO, F.P.; DRISCOLL, S.P. et al. Effects of CO<sub>2</sub> and sugars on photosynthesis and composition of avocado leaves grown *in vitro*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.37, n.7/8, p.587-595, 1999.

YUE, D.; GOSELIN, A.; DESJARDINS, Y. Re-examination of the photosynthetic capacity of *in vitro* cultured strawberry plantlets. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.118, p.419-424, 1993.

ZANANDREA, I.; BACARIN, M. A.; SCHIMITZ, D. D. et al. Chlorophyll fluorescence in *in vitro* cultivated apple. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, p.305-308, 2006.