

Qualidade de luz na biometria e anatomia foliar de plântulas de *Cattleya loddigesii* L. (Orchidaceae) micropropagadas

Light quality in the biometrics and leaf anatomy of *Cattleya loddigesii* L. seedlings (Orchidaceae) micropropagated

Aparecida Gomes de Araujo* Moacir Pasqual^I Luzia Yuriko Miyata^{II}
Evaristo Mauro de Castro^{III} Herminio Souza Rocha^{IV}

RESUMO

A qualidade de luz pode alterar a morfogênese das plantas por meio de uma série de processos mediados por receptores de luz, principalmente na região do vermelho e azul. O objetivo do presente estudo foi verificar alterações anatômicas foliares e características biométricas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', cultivadas in vitro, sob diferentes malhas coloridas com nível de radiação de 50% de sombreamento. Plântulas oriundas de autopolinização e sementes germinadas in vitro, com aproximadamente 1,0cm de comprimento e com raízes, foram inoculadas em meio WPM e submetidas a diferentes condições de incubação. Testou-se o efeito de sombrites coloridos (vermelho e azul) sobre os frascos cultivados em casa de vegetação (CV) e sala de crescimento (SC), além dos tratamentos, nos dois ambientes, sem utilização das telas coloridas. A avaliação foi efetuada 180 dias após inoculação. Com os resultados obtidos, observou-se que o ambiente de cultivo promove alterações anatômicas e biométricas em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' micropropagadas. As alterações promovidas pelo cultivo em luz natural evidenciam maior capacidade fotossintética, por meio de maior diferenciação dos tecidos clorofilianos, promovendo uma superfície foliar anatomicamente adaptada à fase de aclimatização.

Palavras-chave: malhas fotoconversoras, propagação in vitro, anatomia vegetal.

ABSTRACT

The light quality is responsible for the morphogenesis in plants. It is mediated by a series of processes involving light receptors, mainly in the red blue region. The aim of this research was to observe the anatomical leaf alterations as well as the biometric characteristics of in vitro

cultured *Cattleya loddigesii* 'Tipo'. Two different colour shading nets (red and blue, 50% mesh) were tested and compared with a control without the shading nets in greenhouse and growth room. Plantlets of 1.0cm in length with roots produced by self pollinization and by seeds in vitro germination were inoculated in WPM medium and submitted to these different incubation environments. After 180 days of inoculation the plantlets were evaluated. It was observed that the culture environment promote anatomical and biometric alterations in *Cattleya loddigesii* 'Tipo' plantlets micropropagated. The changes promoted by the cultivation in natural light show greater photosynthetic capacity, through greater differentiation of the chlorenchyma tissue, promoting a leaf surface anatomically adapted to the acclimatization stage.

Key words: photoconverter meshes, in vitro propagation, plant anatomy.

INTRODUÇÃO

A utilização da luz natural apresenta inúmeras vantagens sobre o sistema de iluminação tradicional, no que se refere às alterações morfofisiológicas das plantas. Entre elas, destacam-se: aumento no crescimento das plântulas micropropagadas, melhoria das características fisiológicas, pelo fato de as condições ambientais de cultivo serem mais semelhantes àquelas naturais de desenvolvimento das plantas, e, conseqüentemente, ocorrência de redução do estresse da planta durante o transplante para ambiente *ex vitro* (ERIG & SCHUCH, 2005).

^IDepartamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA), 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: agaraujo2003@hotmail.com. *Autor para correspondência.

^{II}Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, Brasil.

^{III}Departamento de Biologia (DBI), UFLA, Lavras, MG, Brasil.

^{IV}Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Caldas, MG, Brasil.

Poucos estudos têm sido realizados para se compreender o efeito da qualidade de luz no crescimento e desenvolvimento dos tecidos de plantas cultivadas *in vitro*. Entretanto, sabe-se que pigmentos distintos absorvem radiação em comprimentos de onda específicos, desencadeando nos vegetais uma série de respostas moduladas por eles, tais como alterações na anatomia e diferenciação de tecidos, alongamento de plantas, desenvolvimento do aparato fotossintético, acúmulo de carboidrato nas folhas, alteração nas concentrações de hormônios vegetais e inibição ou estímulo de brotações axilares (DIGNART, 2009).

Embora diversos autores tenham confirmado efeitos morfológicos e fisiológicos da qualidade de luz nas plantas, as respostas variam de acordo com a espécie estudada (SCHUERGER et al., 1997; ANTONOPOULOU et al., 2004). A qualidade da luz pode afetar a espessura, a diferenciação do mesófilo e do sistema vascular, a divisão celular e o desenvolvimento dos estômatos da folha, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade de luz (SAEBO et al., 1995; SCHUERGER et al., 1997).

Diante disso, objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar o efeito de qualidades de luz com uso de malhas coloridas nas características biométricas e na anatomia foliar em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' (Orchidaceae).

MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *Cattleya loddigesii* Lindley 'Tipo' oriundas de autopolinização e de sementes germinadas *in vitro* com, aproximadamente, 1,0cm de comprimento de parte aérea e contendo raízes foram inoculadas em frascos com meio de cultura WPM (LLOYD & McCOWN, 1980), acrescido de carvão ativado (2g L^{-1}), sacarose (20g L^{-1}), ágar (6g L^{-1}) e pH ajustado para $5,7\pm 0,1$ antes da autoclavagem, a 121°C e $1,5\text{atm}$, por 20 minutos. Os explantes, em número de cinco por frasco, foram inoculados em recipientes com capacidade de 250cm^3 , contendo 60mL de meio de cultura. Após a inoculação, os frascos foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico, e, em seguida, transferidos para sala de crescimento ou casa de vegetação, conforme os tratamentos.

Os tratamentos consistiram de diferentes ambientes de cultivo *in vitro*: casa de vegetação (CV), casa de vegetação com malha azul (CVA), casa de vegetação com malha vermelha (CVV), sala de crescimento (SC), sala de crescimento com malha azul (SCA) e sala de crescimento com malha vermelha (SCV). O material foi colocado diretamente sobre bancadas em casa de vegetação e sob malhas coloridas, as quais

foram fornecidas pela empresa Polysack Plastic Industries®. Segundo OREN-SHAMIR et al. (2001), as malhas coloridas diferem nos espectros de transmitância da radiação fotossinteticamente ativa. A malha azul apresenta um pico principal de transmitância na região do azul-verde (400-540nm), enquanto que a malha vermelha possui maior transmitância para comprimentos de ondas superiores a 590nm.

Foram cultivadas também plântulas em frascos mantidos em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas de luz, temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, com radiação de $5,52\text{W m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (LI-200SA; Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes, para servirem como tratamento controle. Em sala de crescimento, foram testadas também as malhas vermelha e azul. A intensidade da radiação foi mensurada por meio de sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb), sendo observadas as seguintes radiações médias, em $\text{W m}^{-2}\text{s}^{-1}$: CV (13,07); CVV (9,60); CVA (13,07); SC (5,52); SCV (5,40) e SCA (6,68). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, totalizando seis tratamentos, com oito repetições. Cada repetição foi composta por um frasco contendo cinco plântulas.

Aos 180 dias de cultivo, as plântulas de *C. loddigesii* 'Tipo' foram coletadas para proceder-se à coleta de dados. As avaliações fitotécnicas foram realizadas por meio das seguintes variáveis: comprimento de parte aérea em cm (CPA), número de raízes (NR), comprimento de raiz em cm (CR) e massa seca de plântulas em g (MSP).

Para análise anatômica, cinco plântulas foram retiradas por tratamento aleatoriamente e fixadas em álcool etílico 70%. Este trabalho foi realizado no laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Para as seções transversais, foram realizados cortes na região do terço mediano das folhas, utilizando-se o micrótomo de mesa. As seções transversais foram clarificadas em hipoclorito de sódio 1%, durante cinco minutos, sendo enxaguadas em água destilada por 10 minutos. Após a lavagem, as seções foram coradas com azul de astra e safranina, seguindo-se a metodologia descrita por Bukatsch, modificada por KRAUS & ARDUIN (1997). As lâminas foram montadas em glicerina 50%. Para cada tratamento, foram avaliadas cinco folhas de diferentes plântulas e, em cada folha, foram efetuadas cinco avaliações em campos diferentes, utilizando-se ocular micrométrica acoplada a um microscópio de luz. As variáveis analisadas para as seções transversais foram: espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial, espessura do mesófilo na região do feixe vascular central e número de feixes vasculares.

Os cortes paradérmicos foram efetuados manualmente no terço médio foliar, na superfície abaxial das folhas. As lâminas das seções paradérmicas foram montadas com corante safranina em glicerina, com concentração de 0,1% (v/v). Dessas seções, as variáveis analisadas foram: frequência de estômatos, número de células epidérmicas, diâmetros polar e equatorial dos estômatos.

A frequência estomática foi avaliada com auxílio de uma câmara clara, em microscópio Olympus CBB, seguindo-se a técnica descrita por LABORIAU et al. (1961). A frequência estomática e o número de células epidérmicas foram calculados pela contagem do número por mm² de área da folha. As fotomicrografias foram feitas utilizando-se máquina fotográfica acoplada a um microscópio Olympus modelo BX 60.

Para a realização das análises de variância, foi utilizado o programa Sisvar (FERREIRA, 1999). As médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott, a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo das diferentes qualidades de luz utilizadas para todas as variáveis fitotécnicas estudadas, exceto para número de raízes, que teve comportamento igual em todos os tratamentos aplicados. Os valores obtidos para comprimento de parte aérea (Tabela 1) foram maiores em sala de crescimento (SC), SC com malha azul e SC com malha vermelha, concordando com os resultados obtidos por DIGNART (2009), em *Cattleya walkeriana*. Esse resultado pode ser o reflexo de um crescimento já com características de estiolamento induzido pela luminosidade deficiente em sala crescimento. Esse aspecto já foi relatado por RADMANN et al. (2001), no cultivo de *Gypsophila paniculata*, em que todas as

plântulas mantidas em casa de vegetação desenvolveram um menor comprimento de parte aérea, quando comparadas às plântulas mantidas em sala de crescimento. No presente estudo, em casa de vegetação, observaram-se menores comprimentos de parte aérea, sendo essas plântulas, contudo, mais rígidas que as obtidas em sala de crescimento, principalmente sob as telas vermelha e azul.

Para comprimento médio de raízes, todos os tratamentos foram similares, exceto sala de crescimento com malhas azul e vermelha, que resultou em médias inferiores (Tabela 1). Já para número de raízes não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. No enraizamento de *Pinus silvestris* cultivados *in vitro*, NIEMI et al. (2005) não registraram diferenças sob espectros de luz diferenciados. ANTONOPOULOU et al. (2004) encontraram melhores taxas nos parâmetros de enraizamento sob radiação branca, uma vez que esse tipo de radiação contém todos os comprimentos de onda necessários para ganhos energéticos pela fotossíntese, bem como para outros processos fisiológicos. MORINI et al. (2000) também encontraram maior taxa de regeneração de raízes por explante foliar de *Cydonia oblonga* em amplo espectro, ou seja, sob radiação de cor branca.

Maior massa seca de plântulas foi verificada em sala de crescimento sem sombrites coloridos. Os demais tratamentos tiveram resultados semelhantes, porém inferiores à sala de crescimento (Tabela 1). KODYM & ZAPATA-ARIAS (1999) afirmam que, além dos reguladores de crescimento, a luz também influencia consideravelmente a taxa de multiplicação celular e o crescimento em explantes cultivados *in vitro*. Consequentemente, haverá um maior peso final nas plântulas.

Constatou-se que as folhas de *C. loddigesii* cultivadas sob diferentes espectros de luz são do tipo hipoestomáticas, apresentando estômatos do tipo anomocítico (Figura 1A). Em folhas de *C. walkeriana*

Tabela 1 - Comprimento de parte aérea em cm (CPA), número de raízes (NR), comprimento de raiz em cm (CR) e massa seca de plântulas em g (MSP) para *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivada em diferentes ambientes de luz com malhas coloridas.

| Tratamento | CPA | NR | CR | MSP |
|------------|--------|--------|--------|----------|
| CVV | 2,06 b | 4,83 a | 4,44 a | 0,0625 b |
| CVA | 1,90 b | 4,58 a | 4,41 a | 0,0737 b |
| CV | 1,36 c | 5,11 a | 4,62 a | 0,0650 b |
| SCV | 2,83 a | 3,42 a | 3,36 b | 0,0475 b |
| SCA | 3,10 a | 3,35 a | 3,46 b | 0,0637 b |
| SC | 3,02 a | 4,65 a | 5,09 a | 0,105 a |
| Média | 2,38 | 4,32 | 4,23 | 0,0695 |
| CV(%) | 18,51 | 37,77 | 26,92 | 44,93 |

Médias não seguidas pela mesma letra na vertical diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott e Knott a 5% de probabilidade de erro.

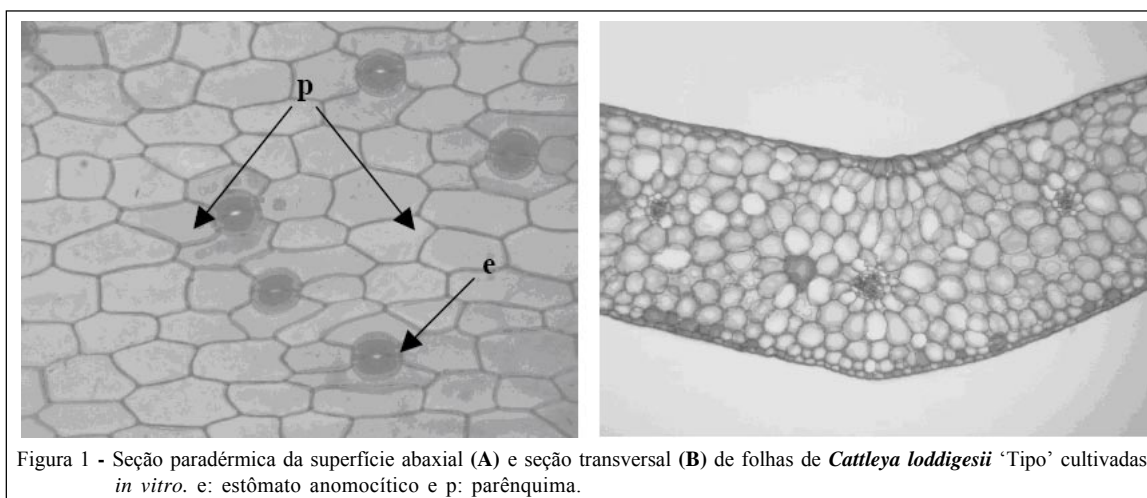


Figura 1 - Seção paradérmica da superfície abaxial (A) e seção transversal (B) de folhas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivadas *in vitro*. e: estômato anomocítico e p: parênquima.

cultivadas *in vitro*, DIGNART (2009) verificou que estas são hipoestomáticas, sendo observados estômatos dos tipos anomocítico, tetracítico e ciclocítico. Observou-se que as epidermes de *C. loddigesii* são uniestratificadas em ambas as faces da folha e o mesofilo possui parênquima clorofiliano homogêneo (Figura 1B). DIGNART (2009) verificou, em *C. walkeriana*, mesofilo semelhante ao encontrado no presente trabalho e maior espessura da epiderme adaxial, quando comparada com a epiderme abaxial.

Houve efeito significativo dos diferentes ambientes de cultivo utilizados para densidade de estômatos, número de células epidérmicas, diâmetro polar, diâmetro equatorial, espessura do mesofilo e número de feixes vasculares. As demais variáveis (índice estomático, espessura das epidermes abaxial e adaxial e a relação DP/DE) não apresentaram diferença entre os tratamentos.

Uma maior densidade de estômatos foi observada em plantas cultivadas em sala de

crescimento sem sombrite e com cobertura vermelha e em casa de vegetação sem cobertura e com sombrite vermelho (Tabela 2). Enquanto que plântulas cultivadas sob cobertura azul, tanto em casa de vegetação, como em sala de crescimento, apresentaram valores inferiores. Esses resultados podem ser comparados aos observados por RAJAPSKE & KELLY (1993), que obtiveram menor densidade estomática trabalhando com crisântemo [*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] cultivado sob filtros de CuSO_4 , que produz os mesmos efeitos de filtros de luz azul. As variações das densidades estomáticas em *C. loddigesii* revelam a plasticidade anatômica em função do ambiente de cultivo. O aumento da densidade estomática está geralmente relacionado com uma maior condutância estomática (JUSTO et al., 2005), evitando que a fotossíntese seja limitada sob condições adversas (LIMA JR. et al., 2006). Contudo, sabe-se que a análise da densidade estomática, por si só, não é um parâmetro preciso para afirmar a adaptabilidade

Tabela 2 - Densidade de estômatos por mm^2 (FE), número de células epidérmicas por mm^2 (NC), diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos (μm), espessura da epiderme da face adaxial (EES), abaxial (EEI) e do mesofilo (M), número de feixes vasculares (NFV), relação DP/DE dos estômatos e índice estomático em folhas de plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivadas em diferentes ambientes de luz com malhas coloridas.

| Trat | FE | NC | DE | DP | EES | M | EEI | NFV | DP/DE | IE |
|-------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CVV | 93,7 a | 808,8 a | 31,1 a | 30,4 a | 45,0 a | 697 a | 18 a | 6,0 b | 0,98 a | 10,4 a |
| CVA | 80,4 b | 754,1 b | 29,9 a | 30,5 a | 54,9 a | 439 b | 18 a | 5,2 b | 1,02 a | 10,2 a |
| CV | 93,1 a | 842,9 a | 30,6 a | 30,9 a | 44,1a | 629 a | 19a | 7,0 b | 1,01 a | 9,92 a |
| SCV | 95,4 a | 767,8 b | 25,8 b | 28,3 b | 52,2 a | 484 b | 19 a | 7,0 b | 1,10 a | 10,8 a |
| SCA | 72,5 b | 714,3 b | 30,0 a | 29,2 b | 45,0 a | 500 b | 17,1 a | 5,6 b | 0,98 a | 9,17 a |
| SC | 94,7 a | 857,7 a | 26,9b | 27,1 b | 47,7 a | 559 b | 19,8 a | 13,4 a | 1,01 a | 9,97 a |
| Média | 88,31 | 790,92 | 29,07 | 29,40 | 48,15 | 551,51 | 18,4 | 7,36 | 1,015 | 10,08 |
| CV(%) | 13,59 | 7,48 | 6,28 | 5,25 | 14,76 | 16,23 | 16,42 | 16,55 | 7,09 | 13,79 |

Médias não seguidas pela mesma letra na vertical diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott e Knott a 5% de probabilidade de erro.

anatômica de espécies cultivadas *in vitro* à aclimatização (KHAN et al., 2002; ROCHA, 2005).

Quanto aos diâmetros polar e equatorial, foram observados melhores resultados nos tratamentos de casa de vegetação com e sem proteção, não diferindo entre si significativamente; o tratamento sob luz artificial com malha azul (SCA) apresentou resultado semelhante aos tratamentos anteriormente citados para o diâmetro equatorial (Tabela 2). DIGNART (2009) observou que o cultivo em casa de vegetação com sombrite vermelho mostrou-se mais eficiente, quanto aos diâmetros polar e equatorial, em estômatos de folhas de *C. walkeriana* cultivadas *in vitro*.

Analisando-se a relação DP/DE (Tabela 2), artifício utilizado para se medir a funcionalidade estomática, verifica-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Diante disso, conclui-se que a condição de luz natural (CV) é capaz de proporcionar elevada densidade estomática, com boa funcionalidade dos estômatos, contribuindo para que as plântulas sejam mais facilmente adaptadas à condição heterotrófica. De forma similar, não foram verificadas diferenças significativas dos tratamentos para o índice estomático.

Um bom indicativo de funcionalidade estomática é o formato das células-guarda em conjunto e também a relação entre diâmetro polar e diâmetro equatorial dos estômatos (ROCHA, 2005). De acordo com KHAN et al. (2002), a forma elíptica é característica de estômatos funcionais, enquanto a forma arredondada, frequentemente, é associada a estômatos que não apresentam funcionamento normal. Segundo ROCHA (2005), quanto maior a relação diâmetro polar/diâmetro equatorial (DP/DE), mais elipsoide é o estômato, podendo resultar em maior funcionalidade.

Um maior número de células epidérmicas foi registrado quando as plântulas foram cultivadas em sala de crescimento, casa de vegetação sem proteção e com malha vermelha (Tabela 2). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para espessura das epidermes adaxial e abaxial. A espessura do mesofilo foi maior em casa de vegetação sem sombrite e com sombrite vermelho, sendo que os demais tratamentos tiveram resultados inferiores (Tabela 2). Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por SCHUERGER et al. (1997), que também não observaram diferenças significativas para espessura da epiderme em *Capsicum annuum* e afirmaram que o mesofilo é mais responsivo à plasticidade anatômica quando submetido à variação espectral.

Os resultados encontrados para a espessura do mesofilo evidenciam a importância da intensidade de luz sobre as características desse tecido foliar, como já relatado por alguns autores (ROCHA, 2005; SERRET et al., 1997). Por outro lado, diferem de outros obtidos por tratamentos de alterações espectrais, pois, na maioria dos casos, observa-se redução da espessura foliar sob radiação vermelha (SAEBO et al., 1995; SCHUERGER et al., 1997). Quanto maior a espessura do mesofilo, ou o número de camadas celulares do mesofilo, maior a eficiência da fotossíntese; entretanto, a exposição a elevadas densidades de fluxo de fótons fotossintéticos pode levar a danos por fotoinibição e fotoxidação do aparato fotossintético. Já a variável número de feixes vasculares foi maior em plântulas cultivadas em sala de crescimento (Tabela 2).

Plantas de *C. loddigesii* apresentaram grande plasticidade em relação aos diferentes ambientes de cultivo *in vitro* estudados, alterando a maioria das características biométricas e algumas referentes à anatomia foliar, as quais estão direta e positivamente relacionadas com a taxa fotossintética e a transpiração, favorecendo, assim, um melhor desenvolvimento das mudas sob diferentes condições ambientais.

CONCLUSÕES

O ambiente de cultivo proporciona alterações anatômicas e biométricas em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' micropopagadas. As alterações promovidas pelo cultivo em luz natural evidenciam maior capacidade fotossintética, por meio de maior diferenciação dos tecidos clorofilianos, promovendo uma superfície foliar anatomicamente adaptada à fase de aclimatização.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

- ANTONOPOULOU, C. et al. The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, Thessaloniki, v.48, n.4, p.549-553, 2004.
- DIGNART, S.L. et al. Luz natural e concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* de *Cattleya walkeriana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.3, p.780-787, 2009. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542009000300017&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 21 ago. 2009. doi: 10.1590/S1413-70542009000300017.

- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e o uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.961-965, 2005. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000400039&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 15 jan. 2009. doi: 10.1590/S0103-84782005000400039.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.3** - Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999. (Software estatístico).
- JUSTO, C.F. et al. Plasticidade anatômica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v.19, n.1, p.111-123, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062005000100011&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 21 ago. 2009. doi: 10.1590/S0102-33062005000100011.
- KHAN, P.S.S.V. et al. Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* Smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.71, n.2, p.141-146, 2002.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F.J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grand Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.55, n.2, p.141-145, 1999.
- KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Seropédica, 1997. 198p.
- LABORIAU, L.G. et al. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.237-252, 1961.
- LIMA JR., E.C. et al. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v.30, n.1, p.33-41, 2006. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622006000100005&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 21 ago. 2009. doi: 10.1590/S0100-67622006000100005.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1980.
- MORINI, S. et al. Effects of 2,4-D and light quality on callus production and differentiation from *in vitro* cultured quince leaves. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.63, n.1, p.47-55, 2000.
- NIEMI, K.; et al. Light sources with different spectra affect root and mycorrhiza formation in Scot pine *in vitro*. **Tree Physiology**, Victoria, v.25, n.1, p.123-128, 2005.
- OREN-SHAMIR, M. et al. Colored shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.76, n.3, p.353-361, 2001.
- RADMANN, E.B. et al. Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n.3, p.171-175, 2001.
- RAJAPSKE, N.C.; KELLY, J.W. Spectral filters influence transpirational water loss in *Chrysanthemum*. **HortScience**, Alexandria, v.28, n.10, p.999-1001, 1993.
- ROCHA, H.S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira 'prata anã'**: alterações morfoanatômicas. 2005. 98f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, MG.
- SAEBO, A. et al. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.41, n.2, p.177-185, 1995.
- SCHUERGER, A.C. et al. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v.79, n.3, p.273-282, 1997.
- SERRET, M.D. et al. The effect of different closure types, light, and sucrose concentration on carbon isotope composition and growth of *Gardenia jasminoides* plantlets during the micropropagation and subsequent acclimation *ex vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.47, n.3, p.217-230, 1997.