

EFEITO DO EXPLANTE, BENZILADANINA E ESPECTRO DE LUZ
NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES *IN VITRO* DE
Paubrasilia echinata (LAM.) E. GAGNON, H. C. LIMA, G. P. LEWIS
(FABACEAE)

JÚLIA OLIVEIRA SCHUELER

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

JULHO 2024

EFEITO DO EXPLANTE, BENZILADENINA E ESPECTRO DE LUZ
NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES *IN VITRO* DE
Paubrasilia echinata (LAM.) E. GAGNON, H. C. LIMA, G. P. LEWIS
(FABACEAE)

JÚLIA OLIVEIRA SCHUELER

Dissertação apresentada ao Centro de
Biociências e Biotecnologia, da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do título
de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Claudete Santa Catarina

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

JULHO 2024


EFEITO DO EXPLANTE, BENZILADENINA E ESPECTRO DE LUZ
NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES *IN VITRO* DE
Paubrasilia echinata (LAM.) E. GAGNON, H. C. LIMA, G. P. LEWIS
(FABACEAE)

JÚLIA OLIVEIRA SCHUELER


Dissertação apresentada ao Centro de
Biociências e Biotecnologia, da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do título
de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 22 de julho de 2024


Banca avaliadora:

Documento assinado digitalmente
 **MARCIO FRONZA**
Data: 29/10/2024 13:06:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof Dr Marcio Fronza

Documento assinado digitalmente
 **THAIS ROSELI CORREA**
Data: 29/10/2024 11:11:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa Dra Thaís Roseli Correa

Documento assinado digitalmente
 **VIRGINIA SILVA CARVALHO**
Data: 29/10/2024 17:59:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa Dra Virginia Silva Carvalho

Documento assinado digitalmente
 **CLAUDETE SANTA CATARINA**
Data: 31/10/2024 11:40:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa Dra Claudete Santa Catarina

DEDICATÓRIA

A **Deus e Nossa Senhora** por todas as graças alcançadas e por toda força para nunca desistir de meus objetivos.

Aos meus pais **Moacyr e Karine** e minha irmã **Lívia** por sempre apoiarem minhas escolhas, meus caminhos, e sempre torcerem pelas minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora por sempre estarem presentes na minha caminhada e me abençoarem;

Agradeço aos meus pais Moacyr e Karine e minha irmã Lívia pelo apoio de sempre em minhas escolhas;

Agradeço a toda minha família (meus avós, tios e primos) por sempre torcerem por mim, em especialmente aos meus tios e padrinhos Juliana e Dover e minha prima Helena, que me acolheram com todo carinho em Campos nesses dois anos de mestrado;

Um agradecimento especial a minha amiga Anna Carolina por abrir essa porta de mestrado e me incentivar a cursar a pós graduação;

Agradeço a minha melhor amiga Larah por sempre torcer e me apoiar nas minhas escolhas;

Agradeço a minha amiga e companheira de mestrado Gabriela pela parceria de sempre nesses dois anos;

Um agradecimento mais que especial a minha querida orientadora professora Claudete Santa Catarina por essa oportunidade, por todo aprendizado, conselhos e apoio durante essa jornada de mestrado;

Agradeço aos pós-doutores, Renan e Yrexam, pelos conselhos e ensinamentos, por todo auxílio nas técnicas básicas de cultura *in vitro*, nas análises de poliaminas e suporte na análise estatística dos dados;

Agradeço também a Laise e Rosana pelo apoio durante a realização dos experimentos de cultura *in vitro*, e a Jociel e Mateus pelo apoio nas análises hormonais;

Agradeço aos demais colegas de laboratório (Guilherme, Samara, Débora, Yasmim e Katherine) e ao nosso ex pós-doutor Tadeu, por todo apoio e ensinamentos ao longo do meu projeto;

Agradeço a secretária do programa de pós-graduação em biotecnologia vegetal Margareth, por sempre estar disposta a ajudar;

Agradeço a professora Virgínia, professora Thais e professor Márcio, membros banca, pôr aceitarem o convite e pelas sugestões e aprendizado;

Agradeço a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), que proporciona a formação de novos profissionais e sempre foi um sonho estudar nessa universidade;

Agradeço ao programa de Pós Graduação em Biotecnologia Vegetal (PPGBV) pela oportunidade de aprendizado;

E por fim, agradeço a todos que reservaram um tempo do seu dia para estarem presentes da minha defesa de dissertação.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO | 8 |
| ABSTRACT | 9 |
| 1. INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.1. A MATA ATLÂNTICA | 10 |
| 1.2. ESPÉCIE DE ESTUDO | 11 |
| 1.3. A PROPAGAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE ESPÉCIES ARBÓREAS | 14 |
| 1.4. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ NA MORFOGÊNESE | 16 |
| 1.5. POLIAMINAS | 18 |
| 1.6. HORMÔNIOS DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS | 20 |
| 2. OBJETIVOS | 21 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 21 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 21 |
| 3. METODOLOGIA | 21 |
| 3.1. MATERIAL VEGETAL | 21 |
| 3.2. GERMINAÇÃO <i>in vitro</i> | 21 |
| 3.3. EFEITOS DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BA E TIPO DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES | 23 |
| 3.4. EFEITO DE DIFERENTES ESPECTROS DE LUZ E TIPOS DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES | 24 |
| 3.5. DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA FRESCA | 27 |
| 3.6. DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE PAS LIVRES | 27 |
| 3.7. DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE HORMÔNIOS VEGETAIS | 27 |
| 3.8. ANÁLISE DOS DADOS | 29 |
| 4. RESULTADOS | 29 |
| 4.1. EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BA E TIPO DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DAS BROTAÇÕES | 29 |
| 4.2. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ E TIPO DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DAS BROTAÇÕES | 31 |
| 4.3. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ NO CONTEÚDO DE PAS LIVRES EM BROTAÇÕES PROVENIENTES DE SEGMENTOS NODAIS COTILEDONARES .. | 35 |
| 4.4. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ NO CONTEÚDO DE HORMÔNIOS VEGETAIS PRESENTES EM BROTAÇÕES PROVENIENTES DE SEGMENTOS NODAIS COTILEDONARES | 36 |
| 5. DISCUSSÃO | 38 |
| 6. CONCLUSÕES | 43 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 44 |

RESUMO

SCHUELER-OLIVEIRA, Júlia. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, julho de 2024. **Efeito do espectro de luz no desenvolvimento de brotações *in vitro* de *Paubrasilia echinata* (Lam.) E. Gagnon, H. C. Lima, G. P. Lewis (Fabaceae).** Orientadora: Profa. Dra. Claudete Santa-Catarina

O intenso desmatamento do bioma Mata Atlântica, atualmente considerado um dos cinco *hotspots* mundiais, resultando na ameaça de extinção de várias espécies vegetais. Dentre as espécies, *Paubrasilia echinata* se encontra ameaçada de extinção pela intensa exploração ao longo dos anos para extração de sua madeira e seiva. A cultura *in vitro* de plantas pode ser uma alternativa viável para a produção de mudas quando comparada aos métodos clássicos de propagação, e pode ser aplicada para a conservação da espécie de estudo. O objetivo foi avaliar o efeito do explante, citocinina e espectro de luz no desenvolvimento das brotações *in vitro* de *P. echinata* e na alteração do perfil de poliaminas (PAs) e hormônios de crescimento vegetal. Para isso, plântulas com 60 dias de germinação *in vitro* foram utilizadas para obtenção de segmentos nodais apicais e cotiledonares. Foi avaliado o efeito de diferentes concentrações (0; 0,1; 0,5 e 1 μM) de benziladenina (BA) e do espectro de luz a partir de lâmpadas do tipo de LED com diferentes combinações de azul, vermelho e vermelho distante, e lâmpada fluorescente como controle, no crescimento das brotações. O uso de 0,1 μM de BA apresentou maior alongamento, entretanto, não diferiu significativamente do controle. A lâmpada LED B/Am/V/Vd, com espectro vermelho distante propiciou maior alongamento das brotações, o qual foi relacionado ao maior conteúdo de PAs livres totais e putrescina, bem como o maior conteúdo de ácido abscísico, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico e BA, e menor conteúdo de ácido salicílico. Este estudo possibilitou o desenvolvimento de brotações *in vitro* de *P. echinata* utilizando o espectro de luz. A interação com PAs e hormônios estimulou o maior alongamento das brotações nesta espécie.

Palavras chaves: Micropropagação; Espectro de luz vermelho; Vermelho distante; Poliaminas; Hormônios de crescimento vegetal

ABSTRACT

SCHUELER-OLIVEIRA, Júlia. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, julho de 2024. **Effect of light spectrum on *in vitro* shoot development *Paubrasilia echinata* (Lam.) E. Gagnon, H. C. Lima, G. P. Lewis (Fabaceae).** Advisor: Profa. Dra. Claudete Santa-Catarina

The intense deforestation of the Atlantic Forest biome, currently considered one of the five global *hotspots*, leading to the threat of extinction of several plant species. Among the species, *Paubrasilia echinata* is endangered due to the intensive exploitation over the years for its wood and sap extraction. *In vitro* plant culture can be a viable alternative for plantlet production compared to classical propagation methods, aiming to contribute to the conservation of the studied species. The objective was to evaluate the effect of explant, cytokinin, and light spectrum on the *in vitro* development of *P. echinata* shoots and the alteration of the polyamine (PAs) and plant growth hormone profiles. For this, 60-day-old *in vitro* germinated seedlings were used to obtain apical and cotyledonary nodal segments. The effect of different concentrations (0; 0.1, 0.5, and 1 μM) of benzyladenine (BA), light spectra from LED lamps with different combinations of blue, red, and far-red, and fluorescent lamp as control on shoot growth was evaluated. The 0.1 μM BA showed greater shoot elongation, however not significantly differing from the control. The LED W/mB/R/fR lamp, with a far-red spectrum, provided greater shoot elongation, which was related to higher total free PAs and putrescine content, as well as higher content of abscisic acid, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, and BA, and lower salicylic acid content. This study enabled the development of *in vitro* shoots of *P. echinata* using the light spectrum. The interaction between PAs and hormones stimulate greater elongation of shoots in this species.

Keywords: Micropropagation; Red light spectrum; Far Red-light spectrum; Polyamines; Plant growth hormones.

1. INTRODUÇÃO

1.1. A MATA ATLÂNTICA

O Brasil apresenta uma das maiores biodiversidades do mundo e grande parte dela se encontra na Mata Atlântica. Ela é considerada a maior floresta pluvial tropical do continente americano, ocupando 15% do território nacional e está presente em 17 estados brasileiros (Figura 1), incluindo Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe (Fundação S. O. S. Mata Atlântica 2022). Neste bioma se encontram 15.700 espécies de plantas, sendo 45% destas classificadas como endêmicas (Gonzatti 2018). Além disso, este bioma é considerado um dos maiores *hotspots* mundiais por ser uma região com elevada biodiversidade (Myers et al. 2000).

A maior parte do produto interno bruto (PIB) do Brasil se concentra na região de Mata Atlântica. Grande parte das empresas brasileiras estão instaladas na região sudeste do país, destacando o estado de São Paulo com o maior PIB acumulado no ano de 2021, com o total de quase 2 bilhões e 800 mil reais (IBGE 2021). Apesar da relevante importância, a agricultura, a pecuária e a alta exploração da madeira são fatores que tem contribuído significativamente para a intensa fragmentação deste bioma, restando menos de 12,4% da floresta original (SOS 2024). Em 22 de dezembro de 2006, a partir da lei Nº 11.428, dispôs-se a conservação, proteção, regeneração e a utilização do Bioma Mata Atlântica (Planalto 2006).



Figura 1. Cobertura original (verde claro) e remanescentes atuais (verde escuro) da Mata Atlântica (SOS 2024).

Devido a intensa degradação da Mata Atlântica, houve uma drástica redução nas espécies vegetais, e muitas delas encontram-se ameaçadas de extinção. Uma das espécies que é altamente explorada desde a época do descobrimento do Brasil é a *Paubrasilia echinata* (Lam) E. Gagnon, H. C. Lima, G. P. Lewis (Fabaceae), conhecida popularmente como pau-brasil. Esta espécie foi intensamente explorada principalmente para a extração do corante brasileína para tingir tecidos e fabricação de tinta, e mais tarde sua madeira foi essencial para a fabricação de arco de violino e violoncelo (Alves et al. 2008; Martinelli e Moraes 2013; Esser et al. 2019). Devido ao seu histórico de exploração a espécie está incluída na lista vermelha da International Union for Conservation of Nature (IUCN) na categoria em perigo (IUCN 2024).

1.2. ESPÉCIE DE ESTUDO

P. echinata é considerada uma espécie endêmica da Mata Atlântica e pode ser encontrada nos Estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Alagoas,

Bahia, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe, porém também é cultivada em outros biomas (Figura 2) (SOS 2024; Esser et al. 2019). Em 7 de dezembro de 1978 a constituição federal, com a Lei nº 6.607 declarou a árvore como espécie símbolo do Brasil, responsável em nomear o país (República 1978). *Caesalpinia echinata* foi o nome descrito por Lamarck no ano de 1785, porém, em 2016 teve uma alteração em sua taxonomia, e recebeu um gênero exclusivo, passando a ser chamada *Paubrasilia echinata* (Gagnon et al. 2016).

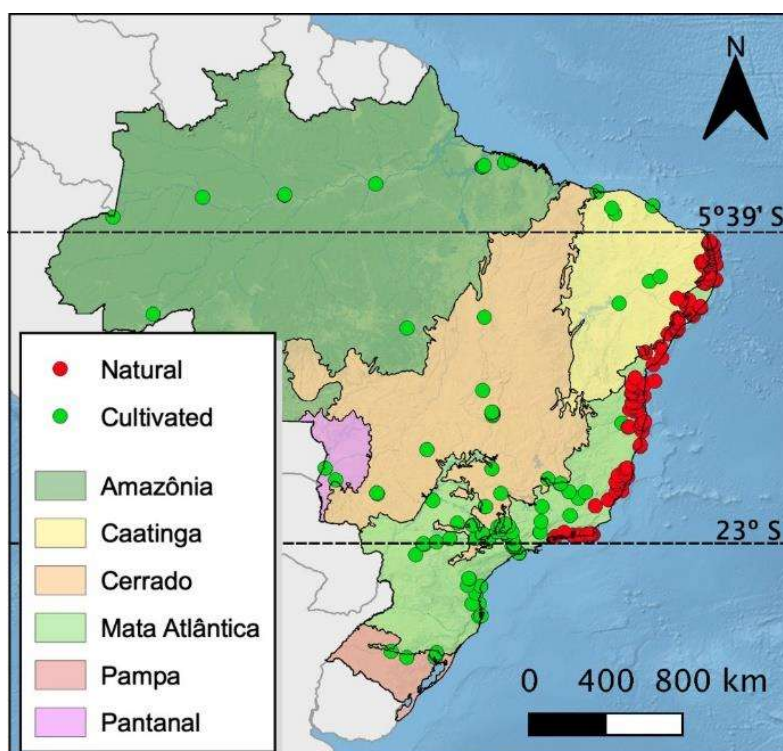


Figura 2. Registros de *Paubrasilia echinata*, segregado em ocorrências naturais e ocorrências cultivadas (Esser et al. 2019).

P. echinata apresenta características exclusivas das árvores da Mata Atlântica por ser uma espécie semidecídua, heliófita ou esciófita e pode atingir até 15 metros (Figura 3A) (Lorenzi 1992). Possui tronco espinhoso com seiva de coloração vermelho-alaranjada, de onde era extraído o corante brasileína. As folhas são de coloração verde, compostas bipinadas e possuem de 5 a 6 pares de pinas (Figura 3B) (Lorenzi 1992). A inflorescência possui flores amareladas (Figura 3C), com uma mancha vermelho-púrpura em uma das pétalas e a floração ocorre entre o final do mês de setembro a outubro, iniciando pela parte inferior do cacho para a posição apical (Lorenzi 1992).

Os frutos são em forma de vagens e espinhosos (Figura 3D) e a maturação ocorre entre novembro e janeiro (Gagnon 2016). As vagens apresentam de 2 a 3 sementes redondas e assimétricas com dispersão autocórica e deiscência de forma explosiva (Borges et al. 2009). Sementes desta espécie apresentaram 90% de germinação aos 45 dias após a floração, e atingiram 100% após 55 dias, e a maturidade fisiológica foi observada aos 65 dias após a floração quando são dispersas, com 100 % de germinação e 12% de conteúdo água (Mescia et al. 2022).

As sementes do *P. echinata* não possuem dormência, e podem ser armazenadas em baixa temperatura (-18 °C) desde que o conteúdo de água seja inferior a 12,7% (Hellmann et al. 2006), e podem se manter viáveis por 5 anos de armazenamento a - 18 °C (Mello et al. 2013). Adicionalmente, há relatos na literatura de propagação desta espécie por estaquia, e apesar do lento crescimento, verificou-se melhor enraizamento com o auxílio do uso de auxinas, como ácido indol-3-butírico (AIB) e ácido naftaleno acético (ANA). A concentração de 2.500 mg L⁻¹ para ambas as auxinas proporcionou aumento significativo no enraizamento, atingindo 16%, em comparação com o controle (sem auxina) (Endres et al. 2007).

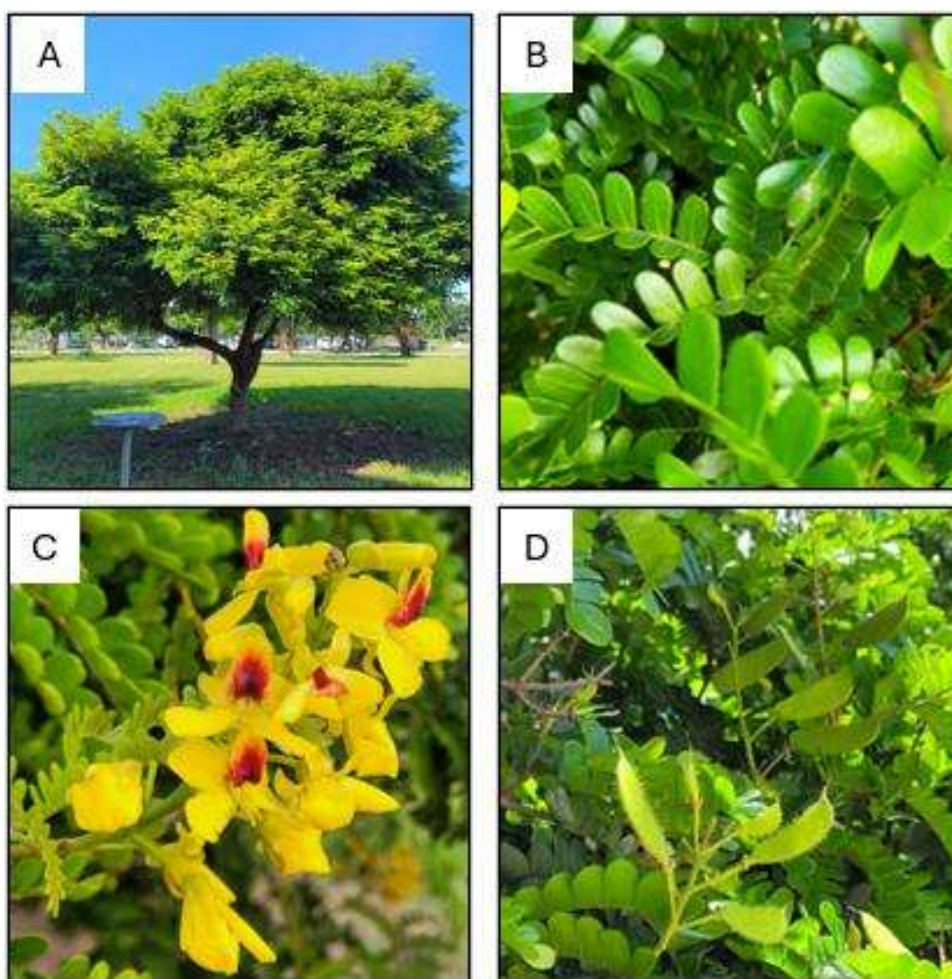


Figura 3. Aspectos morfológicos da árvore (A); folhas (B); flores (C) e frutos (D) de *Paubrasilia echinata*. Fotos de própria autoria.

Diante do exposto, a cultura *in vitro* pode ser uma ferramenta biotecnológica alternativa aos métodos convencionais e poderá contribuir para a propagação e conservação de espécies, como *P. echinata*. Estudos com a cultura *in vitro* de *P. echinata* já foram realizados visando a indução da embriogênese somática direta e indireta (Costa 2018; Vettorazzi 2021). Porém ainda não há trabalhos publicados na literatura sobre o desenvolvimento de brotações provenientes de segmentos nodais apicais e cotiledonares sob efeito de diferentes espectros de luz nesta espécie.

1.3. A PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE ESPÉCIES ARBÓREAS

O cultivo *in vitro* ou a cultura de tecidos vegetais compreende o uso de fragmentos da plantas, denominados explantes, como células, tecidos ou

órgãos, os quais são cultivados em condições assépticas em um determinado meio nutritivo, em condições controladas (Birnbaum e Alvarado 2008). A micropropagação ou propagação vegetativa *in vitro* é uma das técnicas de cultura de tecidos de plantas que consiste na multiplicação *in vitro* de plantas por meio do controle dos componentes do meio de cultura, e do ambiente, como luz e temperatura, permitindo a produção de plantas em escala, em espaço de tempo reduzido (Ostrolucká et al. 2004).

A resposta morfogênica *in vitro* depende de vários fatores, como a espécie selecionada, o tipo e idade do explante, o período de cultivo e das condições oferecidas (Pulianmackal et al. 2014). Neste sentido, é necessário caracterizar as condições específicas para o desenvolvimento da morfogênese, como o tipo do meio de cultura, concentração de regulador de crescimento vegetal (Ivanova et al. 2006) e tipo de luminosidade (Fan et al. 2022).

A propagação *in vitro* pode ser realizada a partir do desenvolvimento de gemas axilares presentes em segmentos nodais, sendo este processo utilizado para a propagação de várias espécies arbóreas, incluindo *Cedrela fissilis*, *Cariniana legalis*, *Dalbergia nigra*, *Schomburgkia crista*, *Pfaffia glomerata*, *Campomanesia phaea* e *Actinia deliciosa* (Aragão et al. 2016; Aragão et al. 2017a; Aragão et al. 2017b; Oliveira et al. 2020; Oliveira et al. 2022; Lerin et al. 2019; Pessanha et al. 2022; Ramos et al. 2023; Silva et al. 2020; Demétrio et al. 2021; Arruda et al. 2019).

Além do tipo de explante, o meio de cultura influencia o desenvolvimento da morfogênese *in vitro*. Na cultura de tecidos de plantas, o meio de cultura de Murashige e Skoog (MS) (Murashige e Skoog 1962) é o mais amplamente utilizado para a propagação de plantas. No entanto, o meio de cultura Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd e McCown 1980) tem sido utilizado para propagar espécies arbóreas (Pessanha et al. 2022; Lerin et al. 2019; Aragão et al. 2017b; Ramos et al. 2023). O uso de reguladores de crescimento ao meio de cultura pode ser necessária para promover a resposta morfogênica (Krikorian 1995). Visando estimular o desenvolvimento de gemas axilares em segmentos nodais, o uso de citocinina, como N6-benziladenina (BA), é fundamental na fase de multiplicação de brotos como para *C. fissilis* e *D. nigra* (Aragão et al. 2016; Pessanha et al. 2022).

As citocininas promovem a divisão celular e por consequência, podem influenciar na morfogênese e na formação de órgãos (Ivanova et al. 2006). A benziladenina (BA) é a citocinina sintética mais utilizada na cultura de tecidos, e ao ajustar a concentração na cultura *in vitro* de plantas, pode auxiliar no controle da dominância apical, promovendo o crescimento de gemas laterais (Krikorian 1995). A concentração de BA na cultura *in vitro* pode variar para cada espécie (Pessanha et al. 2022). Sendo assim, é importante realizar testes com diferentes concentrações de BA na micropropagação, para que possa estabelecer uma melhor concentração para a resposta *in vitro*.

Estudos realizados com segmentos nodais provenientes de plantas crescidas *in vitro* de *D. nigra* e *C. fissilis*, a adição exógena de 2,5 µM de BA em meio de cultura promoveu o maior alongamento das brotações comparativamente em meio sem a adição de citocinina (Aragão et al. 2016; Pessanha et al. 2022). Adicionalmente, concentrações de 1.0 e 2.0 mg L⁻¹ de BA promoveram o desenvolvimento de brotações a partir de segmentos nodais em *Campomanesia phaea* (Demétrio et al. 2021). O número de brotos oriundos de segmentos nodais em *Actinidia chinensis* foi significativamente maior com o acréscimo de meta-Topolin (mT), uma citocinina, quando comparado ao BA (Saeiahagh et al. 2019). No entanto, para algumas espécies, como *C. legalis* o uso de BA não promoveu o maior desenvolvimento das brotações (Aragão et al. 2017b), sendo necessário outras estratégias para promover o alongamento, como o espectro de luz (Lerin et al. 2019). O espectro de luz contendo azul, vermelho e vermelho distante podem influenciar significativamente a morfogênese *in vitro* de espécies vegetais (Oliveira et al. 2020; Lerin et al. 2019; Rodrigues 2023; Silva et al. 2020; Baptista et al. 2022).

1.4. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ NA MORFOGÊNESE

As condições luminosas afetam a morfogênese de plantas, e por isso a luz é considerada um parâmetro importante quando se refere a cultura *in vitro* (Gnasekaran et al. 2022). Em laboratórios de cultura de tecidos é comum o uso de luminosidade oriunda de lâmpadas fluorescentes como fonte de luminosidade. Porém, estas lâmpadas apresentam algumas desvantagens quando comparadas as lâmpadas do tipo Light-Emitting Diode (LED), pois

possuem alto gasto de energia, produção de calor, emissão de luz em comprimentos em que a fotossíntese não é ativa e não são capazes de produzir espectros e luz estáveis por muito tempo pois possuem curta vida útil (Gupta e Jatothu 2013; Darko et al. 2014; Batista et al. 2018). Neste sentido, as lâmpadas fluorescentes têm sido substituídas por lâmpadas LED, sendo possível, além da economia de energia, o uso de espectros de luz específicos para estudo da morfogênese *in vitro*.

A luz afeta a maioria das etapas do ciclo da planta, sendo um sinal para o desenvolvimento vegetal (Gupta e Karmakar 2017). Além de proporcionar a fixação de CO₂ através da fotossíntese garantindo fonte de energia para planta, as fontes luminosas auxiliam na sinalização que modula a fisiologia e o desenvolvimento da planta (Vieira et al. 2015; Chen et al. 2021). Essa sinalização é realizada por meio de pigmentos fotorreceptores, que permitem as plantas absorverem a luz (Paik e Huq 2019). Esses pigmentos utilizam a energia luminosa como sinalizadores biológicos que atuam como moduladores da expressão de genes que estão associados com respostas metabólicas, morfogenéticas e com o crescimento e desenvolvimento vegetal (Wit e Pierik 2016; Viczián et al. 2017; Farrokhzad et al. 2022).

Distintos comprimentos de onda são reconhecidos pelos fotorreceptores presentes nos vegetais, como azul (A, 445-500 nm), verde (G, 500-580 nm), vermelho (V, 620-700 nm) e vermelho distante (dV, 700-775 nm). Há ainda fotorreceptores específicos que absorvem a radiação ultravioleta (UV), principalmente as do tipo UV-A (315-380 nm) e UV-B (280-315 nm) que são percebidas durante a fotomorfogênese (Kong e Zheng 2020), como o UVR8 (Shi e Liu 2021). Como perceptores das luzes vermelha e vermelha distante se encaixam os fitocromos (Kusuma e Bugbee 2021).

Os fitocromos, ao isomerizarem por meio da resposta à luz vermelha/vermelha distante, conhecido como fotorreversibilidade, podem induzir mudanças na estrutura da proteína, estando na forma ativa e inativa do fitocromo (Bae e Choi 2008). Já os criptocromos (Canamero et al. 2006), fototropinas (Briggs e Christie 2002) e membros da família ZEITLUPE (ZTL) são estimulados pela luz azul/UV-A (Galvão e Fankhauser 2015; Kong e Zheng 2020).

As fototropinas por sua vez, possibilitam a abertura estomática e no movimento do cloroplasto, por meio da luz azul (Paik e Huq 2019). Contudo, é

essencial o desenvolvimento de estudos que apresentem respostas fotomorfogenéticas de plantas utilizando diferentes lâmpadas que possibilitam o controle da composição espectral (Jung et al. 2021).

Em estudos de cultura *in vitro* com *C. fissilis*, a LED contendo as combinações B/Am/V (branco, azul médio e vermelho) proporcionou melhor desenvolvimento dos brotos quando comparado as demais LEDs e o tratamento controle (luz fluorescente) (Oliveira et al. 2020). Brotações de *G. integrifolia* cultivadas *in vitro* em meio de cultura MS suplementado com 0,5 µM de BA sob LED B/Am/V com combinações de espectro de luz branco, azul médio e vermelho, foi verificado um aumento significativo em seu comprimento, o qual foi relacionado ao maior acúmulo de poliaminas (PAs) em relação aos brotos expostos às demais LEDs e à lâmpada fluorescente (Rodrigues 2023).

Em *C. legalis* foi demonstrado que brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares e apicais cultivados em meio de cultura WPM apresentaram maior desenvolvimento quando submetidas ao espectro de luz da LED B/Ab/V (branco, azul baixo e vermelho) em comparação aos demais tratamentos testados. Além disso, o trabalho resultou em uma diferença significativa quanto ao acúmulo de PAs, constatando um alto acúmulo de PAs em brotações crescidas sob a lâmpada LED B/Ab/V comparativamente àquelas sob a lâmpada fluorescente, sugerindo relação das PAs com o crescimento e desenvolvimento das brotações mediado pelo espectro de luz (Lerin et al. 2019).

Apesar de estudos sobre o desenvolvimento de brotações a partir do efeito de diferentes LEDs com outras espécies arbóreas, para *P. echinata* ainda não há relatos do efeito do espectro de luz na indução e desenvolvimento de brotos. Sendo assim, é importante o estudo de brotações de *P. echinata* desenvolvidas sob diferentes espectros de luz e análises bioquímicas, como PAs e hormônios, desses brotos.

1.5. POLIAMINAS

As PAs são moléculas carregadas positivamente presentes nas plantas, animais e microrganismos (Kusano et al. 2008). Por serem alifáticas, policatiônicas e apresentarem em sua composição cadeias carboxilas ligadas a um ou mais grupos amino (-NH₃⁺), são capazes de ligar a ânions carregados

negativamente, como moléculas de DNA, RNA, proteínas, polissacarídeos, ATP, componentes da parede celular e fosfolipídeos. Há três PAs mais comuns em plantas, e estão diretamente relacionadas com o crescimento e desenvolvimento vegetal, sendo elas: putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm) (Kusano et al., 2008). Em geral, ao interagirem com os ânions, essas moléculas são capacitadas em regular a expressão gênica, manter a estabilidade da membrana, modularem sinais e atuar na proliferação da célula (Baron e Stasolla 2008; Alcázar et al. 2010).

Como as PAs, especialmente a Put, podem promover a divisão celular, estudos avaliando o efeito da adição exógena de Put em meio de cultura tem sido realizados. A adição de 2,5 mM de Put com 2,5 μ M de BA promoveu o alongamento significativo das brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares em comparação ao controle (sem Put), proporcionando também maior acúmulo de Put em *C. fissilis* (Aragão et al. 2017b). Adicionalmente, o conteúdo endógeno de PAs durante o desenvolvimento de brotações em *C. fissilis* com acréscimo de 2,5 μ M de BA foi quantificado, verificando que BA modula o conteúdo endógeno de PAs (Aragão et al. 2016).

Em *D. nigra* foi realizada a análise do conteúdo endógeno de PAs em brotações comparando os efeitos de BA e o tipo de explante. Houve um aumento significativo no conteúdo endógeno de Put nas brotações que foram mantidas em meio de cultura suplementado com 2,5 μ M de BA e oriundos de segmentos nodais apicais. Por outro lado, a PA Spm teve maior acúmulo nos brotos desenvolvidos a partir de segmentos cotiledonares e cultivados com a mesma concentração de BA (Pessanha et al. 2022).

Além da relação direta das PAs na morfogênese *in vitro*, estudos mostram que o espectro de luz pode afetar a resposta morfogenética *in vitro* pela modulação no conteúdo endógeno de PAs (Oliveira et al. 2020; Lerin et al. 2019; Pessanha et al. 2022). Em brotações de *C. legalis* as PAs Put e Spd foram mais abundantes quando expostos a LED B/Ab/V, contendo espectro de luz branca (B), azul baixo (Ab) e vermelho (V) em comparação com a lâmpada fluorescente (Lerin et al. 2019). Já em *C. fissilis*, a LED B/Am/V, contendo luz branca (B), azul médio (Am) e vermelho (V) apenas a Put teve um aumento significativo no alongamento das brotações quando comparado a lâmpada fluorescente (Oliveira et al. 2020). Em *P. echinata* não existem estudos sobre o uso do espectro de luz

na promoção do desenvolvimento de brotações, e sua interação com outros compostos, como hormônios de crescimento de plantas.

1.6. HORMÔNIOS DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

Os hormônios vegetais, ou fitormônios, são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois atuam como mensageiros químicos que regulam diversos processos fisiológicos. Dentre eles estão as auxinas, citocininas, giberelinas (GA), etileno, ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (AS), e ácido jasmônico (JA) (Huang et al. 2019). O balanço entre auxina e citocinina é fundamental na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas (Skoog e Miller 1957), sendo relevante no controle da morfogênese *in vitro* (Asghar et al. 2023).

Durante o desenvolvimento de brotações *in vitro* de *C. fissilis* submetidas a quatro subculturas, uma diminuição no conteúdo endógeno de ácido 3-indolacético (AIA), ácido abscísico (ABA) e ácido 12-oxo-fitodienóico (OPDA), um intermediário na biossíntese de JA, na quarta subcultura comparado com a primeira foi associada com a redução no potencial de crescimento das brotações e de seu enraizamento ao longo das subculturas. De outro modo, houve um aumento significativo os conteúdos endógenos de JA, JA-Ile, ácido transcinâmico (t-CA) e AS nas brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares no quarta subcultura comparado com a primeira, sendo este aumento relacionado à redução do potencial de desenvolvimento *in vitro* das brotações e de seu enraizamento (Oliveira et al. 2022).

Neste sentido, entender as alterações hormonais durante o desenvolvimento de brotações sob influência de diferentes espectros de luz é relevante para melhorar as práticas de cultura *in vitro*. A partir desta análise é possível identificar os tipos de reguladores de crescimento e as concentrações destes, assim como o balanço entre os diferentes compostos a serem adicionados ao meio de cultura para proporcionar, por meio do controle de condições laboratoriais, um melhor crescimento e desenvolvimento da resposta morfogênica.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do explante, da benziladenina (BA) e de diferentes espectros de luz no desenvolvimento de brotações *in vitro* de *P. echinata* e nas alterações do conteúdo de PAs e hormônios de crescimento.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A.** Avaliar o efeito do explante e concentração de BA sobre a indução, número e comprimento de brotações *in vitro*;
- B.** Avaliar o efeito do explante e de diferentes espectros de luz sobre o desenvolvimento de brotações *in vitro*;
- C.** Identificar alterações no acúmulo de PAs relacionadas ao desenvolvimento das brotações obtidas por meio de determinados espectros de luz;
- D.** Identificar alterações no conteúdo de hormônios vegetais em brotações obtidas na LED que proporcionou melhor desenvolvimento em comparação com as brotações obtidas em lâmpada fluorescente.

3. METODOLOGIA

3.1. MATERIAL VEGETAL

Para a germinação *in vitro* foram utilizadas sementes de *P. echinata* recém coletadas em árvores localizadas no município de Campos dos Goytacazes, no Estado do Rio de Janeiro – RJ. Após 60 dias da germinação *in vitro*, plântulas foram utilizadas como fonte de segmentos nodais apicais e cotiledonares (1,5 cm) utilizados como explantes para os experimentos com brotações *in vitro*.

3.2. GERMINAÇÃO *in vitro*

Vagens de *P. echinata* ainda verdes, com 6 semanas após a floração, foram coletadas em árvores já catalogadas pelo herbário da UENF (Tombo: HUENF 7483; HUENF 7500; HUENF 8126) e em outras árvores localizadas no município de Campos dos Goytacazes - RJ (Tombo: HUENF 9618). Estes frutos foram mantidos na geladeira por alguns dias até a realização da assepsia. Previamente à assepsia, os espinhos das vagens foram retirados manualmente por raspagem, com auxílio de um bisturi.

Em seguida, as vagens foram alocadas em frascos de vidro para realizar a desinfestação (Santa-Catarina et al. 2001). Primeiramente, as vagens foram lavadas com detergente neutro e água, emergidas em álcool 70% por um min, seguido de água sanitária comercial Qboa® 100% (contendo 1,8 a 2,5 % de hipoclorito de sódio) por uma hora. Em seguida, os frascos com as vagens foram transferidos para o fluxo laminar, e as vagens foram lavadas por 3 vezes com água destilada autoclavada.

As sementes foram isoladas das vagens e transferidas para meio de cultura WPM suplementado com 20 g.L⁻¹ de sacarose e 2 g.L⁻¹ de Phytigel para a germinação *in vitro*. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7. Em seguida, o meio foi aquecido para geleificar o Phytigel, distribuído em tubos de ensaio (10 mL/tubo), e autoclavados a 121 °C por 20 min. Após a transferência para os meios de cultura, as sementes foram mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de 55 µmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 8 h, a 25± 2 °C. Plântulas com 60 dias (Figura 4A) foram utilizadas como fonte de explantes de segmentos nodais apicais e cotiledonares (Figura 4B).

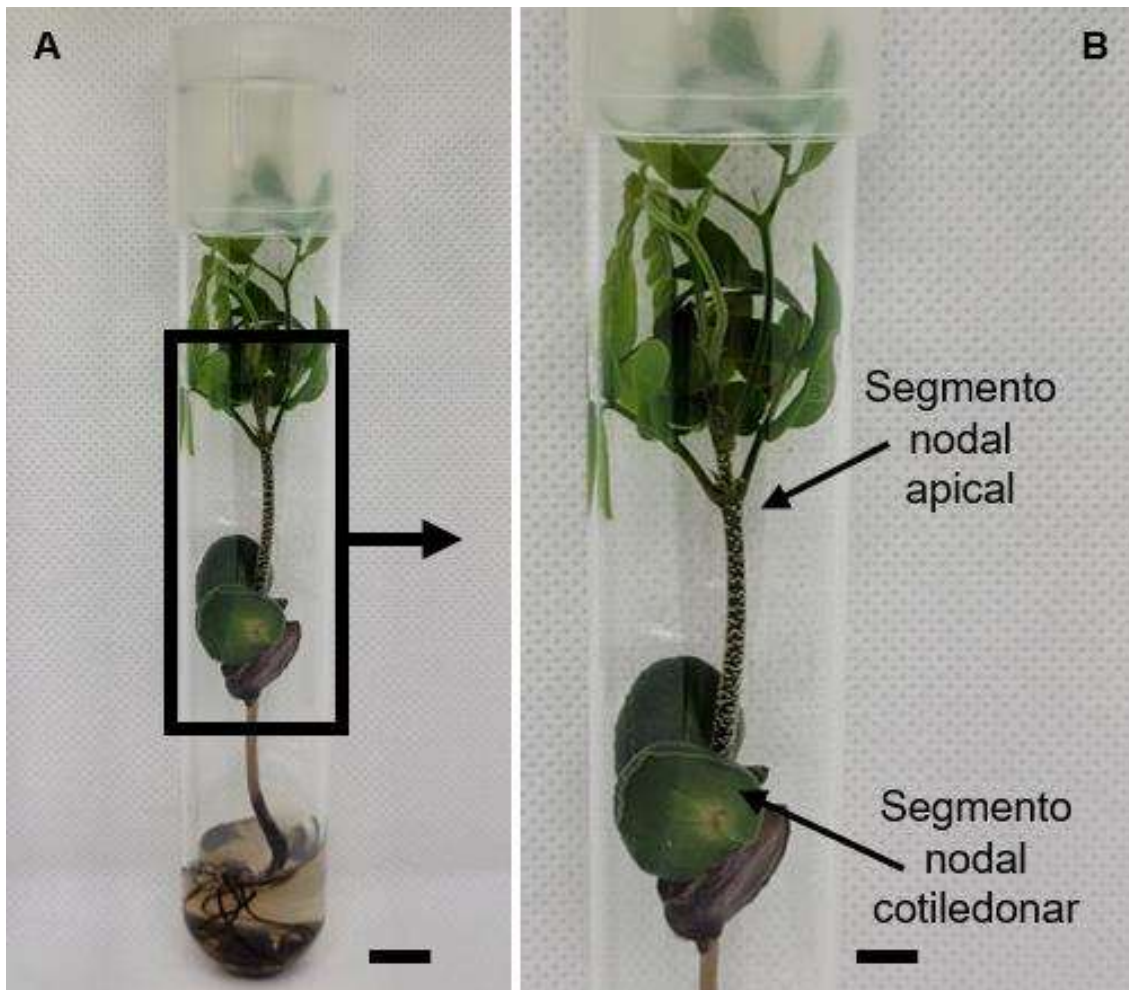


Figura 4. Plântulas de *P. echinata* com 60 dias de germinação *in vitro* (A) ilustrando os segmentos nodais apical e cotiledonar (B) utilizados como explantes para o desenvolvimento das brotações *in vitro*. Barras: a = 1 cm; b = 1 cm.

3.3. EFEITOS DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BA E TIPO DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES

Segmentos nodais apicais e cotiledonares (Figura 4) foram isolados das plântulas e inoculados em meio de cultura MS e WPM suplementado com 20 g.L⁻¹ de sacarose, 2 g.L⁻¹ de Phytigel e 5 diferentes concentrações (0, 0,1, 0,5 e 1,0 μM) de BA. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7, e em seguida, adicionado Phytigel e aquecido. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em frascos de cultura (30 mL/frasco) e autoclavado a 121 °C por 20 min. Após a transferência para o meio de cultura, os explantes foram mantidos em sala de crescimento com intensidade luminosa de 73 μmol m² s⁻¹, e fotoperíodo de 8 h, a 25 ± 2 °C. Após 120 dias foram avaliados a indução (%) e comprimento das brotações e número de brotos por explante.

3.4. EFEITO DE DIFERENTES ESPECTROS DE LUZ E TIPOS DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DE BROTAÇÕES

Como o efeito do BA no alongamento não foi significativo entre os tipos de explantes com as concentrações de BA, avaliou-se o efeito do espectro de luz no desenvolvimento das brotações. Segmentos nodais apicais e cotiledonares ($\pm 1,5$ cm) foram isolados de plântulas germinadas *in vitro* por 60 dias e transferidos para os frascos contendo meio WPM, suplementado com 20 g.L⁻¹ de sacarose, 0,1 μ M de BA e 2 g.L⁻¹ de Phytigel. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7, e em seguida, adicionado Phytigel e aquecido. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em frascos de cultura (30 mL/frasco) e autoclavado a 121 °C por 20 min.

Segmentos nodais apicais e cotiledonares isolados das plântulas foram transferidos para o meio de cultura, e mantidos em sala de crescimento sob sete diferentes lâmpadas, sendo seis lâmpadas do tipo LEDs e uma lâmpada fluorescente como controle (Tabela 1). Cada tratamento de lâmpada LED e tipo de explante (segmentos nodais apicais e cotiledonares) foi composto por 8 frascos, e cada frasco continha 5 segmentos nodais apicais ou cotiledonares, totalizando 40 explantes por tratamento.

Os frascos foram cobertos com 4 camadas de sombrite para aumentar o sombreamento (Figura 5A), com intensidade luminosa de 73 e 16 μ mol m² s⁻¹, sem e com sombrite, respectivamente (Tabela 1). Para igualar a intensidade luminosa incidente nas brotações, foi quantificada a intensidade luminosa na altura do frasco de cultura sob a prateleira sem e com sombrite com o auxílio de um espectrofotômetro, realizando o ajuste na distância do frasco de cultura em relação às lâmpadas com placas de isopor (Figura 5B).

Após 120 dias foram avaliados a indução, comprimento e número de brotações induzidas por explante. Amostras de brotações mantidas na lâmpada fluorescente (controle) e na lâmpada LED que proporcionaram o melhor alongamento das foram coletadas para análise de PAs e hormônios, e armazenadas a -80°C.

Tabela 1. Características das lâmpadas tipo LED (Philips LED Green Power) e fluorescente utilizadas como tratamentos no experimento.

| Espectro de Luz das lâmpadas | Pico de comprimento de onda (nm) | Intensidade luminosa sem sombrite ($\mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | Intensidade luminosa abaixo do sombrite ($\mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$) |
|-------------------------------------|---|--|--|
| Fluorescente | 435/545/580 | 73 | 16 |
| LED B / Am* | 450/530 | 73 | 16 |
| LED B / Aa | 450/530 | 73 | 16 |
| LED B / Ab/ V | 450/530/660 | 73 | 16 |
| LED B / Am/ V | 450/530/660 | 73 | 16 |
| LED B / Ab / V / Vd | 450/530/660/735 | 73 | 16 |
| LED B / Am/ V/ Vd | 450/530/660/735 | 73 | 16 |

* B / Am (Branco / Azul médio); B / Aa (Branco / Azul alto); B / Ab / V (Branco / Azul baixo / Vermelho); B / Am / V (Branco / Azul médio / Vermelho); B / Ab / V / Vd (Branco / Azul baixo / Vermelho / Vermelho distante); B / Am / V / Vd (Branco / Azul médio / Vermelho / Vermelho distante)

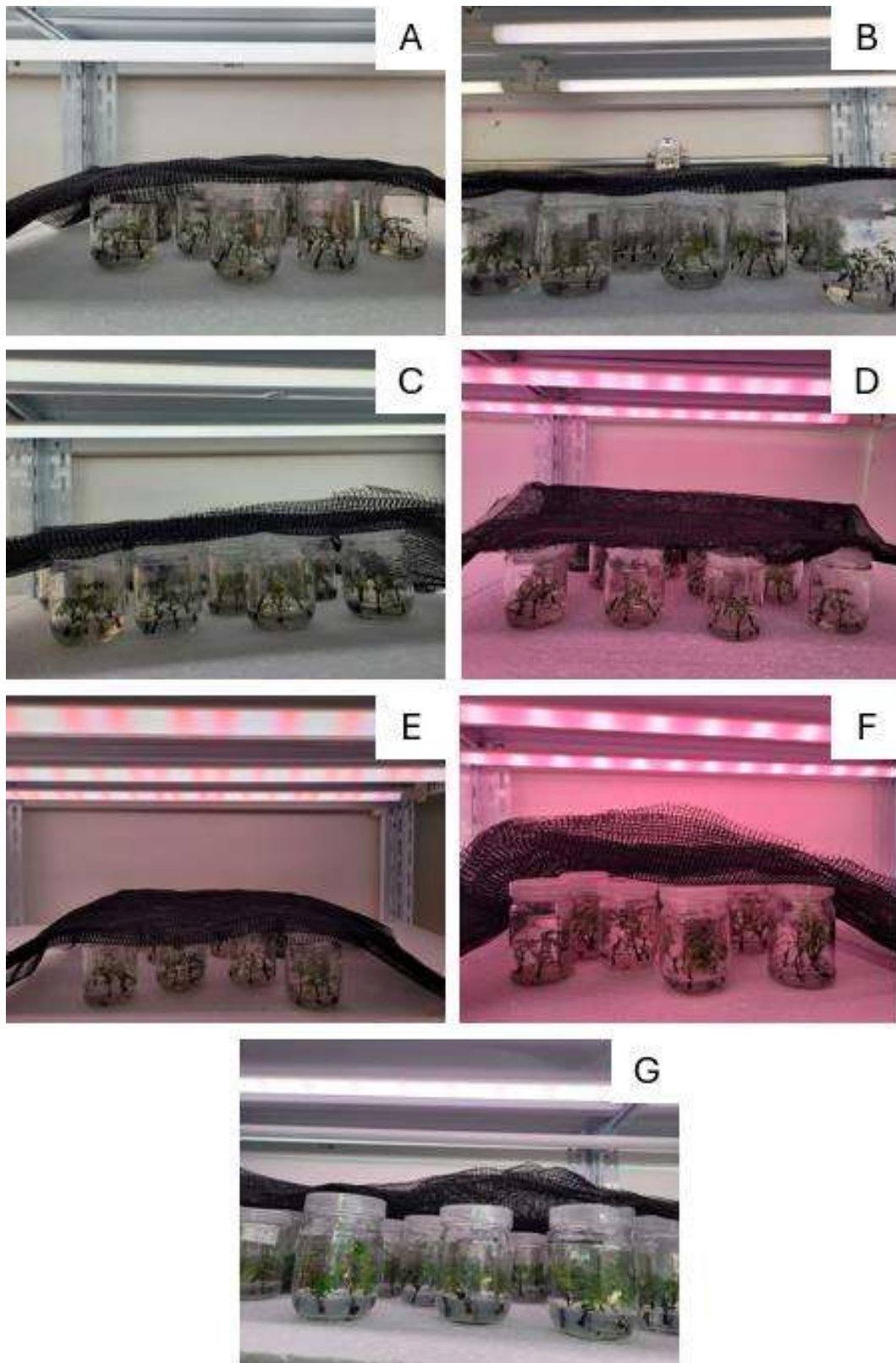


Figura 5. Aspectos morfológicos da disposição de frascos de cultura contendo segmentos nodais apicais e cotiledonares incubados sobre 7 diferentes tipos de lâmpadas: Luz fluorescente (A); LED BAm (B); LED BAa (C); LED BAbV (D); LED BAmV (E); LED BAbVVd (F) e LED BAmVVd (G). B = Branco, Ab = baixo azul, Am = azul médio, V = vermelho, Vd = Vermelho distante

3.5. DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA FRESCA

A matéria fresca (MF) foi avaliada em brotações desenvolvidas sob a lâmpada fluorescente e a LED que proporcionará o melhor desenvolvimento das brotações a partir de segmentos nodais apicais e cotiledonares por meio da pesagem em balança de precisão.

3.6. DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE PAS LIVRES

As PAs livres foram determinadas de acordo com a metodologia de (Silveira et al. 2004). Em brotações oriundas de segmentos nodais apicais e cotiledonares obtidas na lâmpada LED que proporcionaram o melhor alongamento das brotações e na lâmpada fluorescente (utilizada como controle). Amostras (200 mg de MF cada, em triplicata) foram maceradas com 1,2 mL de ácido perclórico a 5%, incubada por 1 h a 4°C, e em seguida centrifugadas por 20 min a 20,000xg, a 4°C. O sobrenadante foi coletado, e as PAs livres foram analisadas diretamente do sobrenadante por dansilação com cloreto de dansil (Merck). Por conseguinte, foi realizada a fase do particionamento com tolueno. O tolueno foi seco em gás de nitrogênio, e as PAs foram ressuspensas em acetonitrila absoluta.

As amostras foram analisadas em cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), utilizando uma coluna de fase reversa – C18. O gradiente da coluna foi criado em mistura de volumes crescentes de acetonitrila absoluta a uma solução aquosa a 10% de acetonitrila (pH 3,5) ajustada com ácido clorídrico. O gradiente de acetonitrila absoluta foi programado para 65% nos primeiros 10 min, aumentando de 65 para 100% entre 10 e 13 min e mantido a 100% entre 13 e 21 min a um fluxo de 1 mL min, a 40°C. Foi utilizado um detector de fluorescência a 340 nm (excitação) e 510 nm (emissão) para detecção dos picos de PAs. As áreas do pico e os tempos de retenção das PAs livres foram obtidos por comparação com as PAs padrão, Put, Spd e Spm.

3.7. DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE HORMÔNIOS VEGETAIS

Os hormônios vegetais AIA, ABA, GA, SA, JA e ACC foram extraídos de acordo com (Silveira et al. 2004), com modificações. Amostras (200 mg de MF,

em quintuplicata) de brotações com 150 dias foram coletadas, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e maceradas até formar um pó fino. Em seguida, foram adicionados 1,5 mL de tampão de extração composto por 80% de etanol (Sigma-Aldrich; St. Louis, EUA) e 1% de polivinilpirrolidona (PVP-40) (Sigma-Aldrich; St. Louis, EUA). Posteriormente, as amostras foram sonicadas por 10 min e centrifugadas a 16.000 x g a 4 °C por 10 min. O sobrenadante foi seco em um concentrador a vácuo a 45 °C. O volume da amostra foi então ajustado para 500 µL/500 mg com água Milli-Q, e o pH foi ajustado para 2,5 a 3,2 com 40 µL de ácido acético (Synth, São Paulo, Brasil). Para cada amostra, foram adicionados duas vezes 1 mL de éter etílico (Sigma-Aldrich; St. Louis, EUA) e incubados em gelo por 2 min, coletando a fase orgânica em um novo microtubo e colocando-o em um concentrador a vácuo a 45 °C até que as amostras estivessem completamente secas. As amostras foram ressuspendidas em 500 µL de metanol: água (10:90), filtradas usando uma seringa com um filtro PTFE de 0,22 µm (Merck Millipore; Darmstadt, Alemanha) e armazenadas em vials (Waters; Manchester, Reino Unido).

Os hormônios foram separados conforme (Oliveira et al. 2022) por cromatografia líquida usando 10 µL da solução recuperada da extração em uma coluna BEH C18 1,7 µm (2,1 µm × 50 mm; Waters; Manchester, Reino Unido) aquecida a 40 °C, com uma taxa de fluxo de 300 µL min⁻¹. O gradiente binário consistiu em água grau LC-MS com 0,01% de ácido fórmico e metanol grau LC-MS com 0,01% de ácido fórmico como eluente. O gradiente de eluição começou com 10% de metanol e foi mantido por 2 min, aumentando linearmente para 90% ao longo de 4 min, em seguida, aumentando linearmente para 100% em um minuto, e diminuindo para 10% em 50 s, mantido em 10% por 70 s, totalizando um tempo de execução de 9 min.

Utilizando uma fonte de ionização com eletropulverização (ESI) de alta performance em Z-spray ortogonal duplo (Waters; Manchester, Reino Unido), os efluentes do Acquity UPLC I-Class FTN (Waters; Manchester, Reino Unido) foram introduzidos no espectrômetro de massas triplo quadrupolo Xevo TQ-XS (Waters; Manchester, Reino Unido). Foi empregada nebulização pressurizada de gás nitrogênio a 7 Bar, com fluxo de dessolvatação de 1000 L h⁻¹ e fluxo no cone de 150 L h⁻¹. A temperatura do gás de dessolvatação foi 650 °C, a temperatura da fonte 150 °C, e a tensão capilar para 3 kV. Para a operação do

duplo quadrupolo em tandem (MS/MS), foi utilizado gás argônio como gás de colisão a uma pressão de 0,8 kgf/cm² na célula de colisão. O espectrômetro operou no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM), com tensão do cone, energia de colisão, massa precursora e massa de fragmento dependendo do hormônio em estudo. O software Masslynx versão 4.2 (Waters; Manchester, Reino Unido) foi utilizado para processar os cromatogramas. Após a aquisição, os espectros foram integrados, e os hormônios foram quantificados utilizando o software TargetLynx XS (Waters; Manchester, Reino Unido). A área sob o pico de cada hormônio foi comparada com uma curva padrão (AIA, ABA, GA, JA, SA, ACC) em pg. As médias das cinco réplicas biológicas de cada tratamento foram comparadas usando teste t ao nível de 5% de probabilidade para inferir diferenças significativas entre as médias.

3.8. ANÁLISE DOS DADOS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados foram analisados usando a análise de variância ($P < 0,05$) seguido pelo teste Tukey usando o R Environment (Team 2018). Para o conteúdo de PAs e hormônios foi realizado a análise pelo teste t de Studente.

4. RESULTADOS

4.1. EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BA E TIPO DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DAS BROTAÇÕES

Verificou-se que, embora a concentração de 0,1 μM de BA tenha apresentado maior alongamento das brotações, porém sem diferença significativa comparado ao controle (Figura 6A). A indução (Figura 6B) e o número (Figura 6C) de brotações foram significativamente superiores no controle e com a menor concentração (0,1 μM) de BA, enquanto as concentrações maiores de BA reduziram significativamente a resposta para estes parâmetros analisados.

Segmentos nodais cotiledonares possibilitaram o desenvolvimento de brotações com maior alongamento comparativamente aos apicais (Figura 7A),

assim como maior indução (Figura 7B) e número de brotações (Figura 7C). Não houve interação significativa entre os fatores tipo de explante e concentração de BA utilizada.

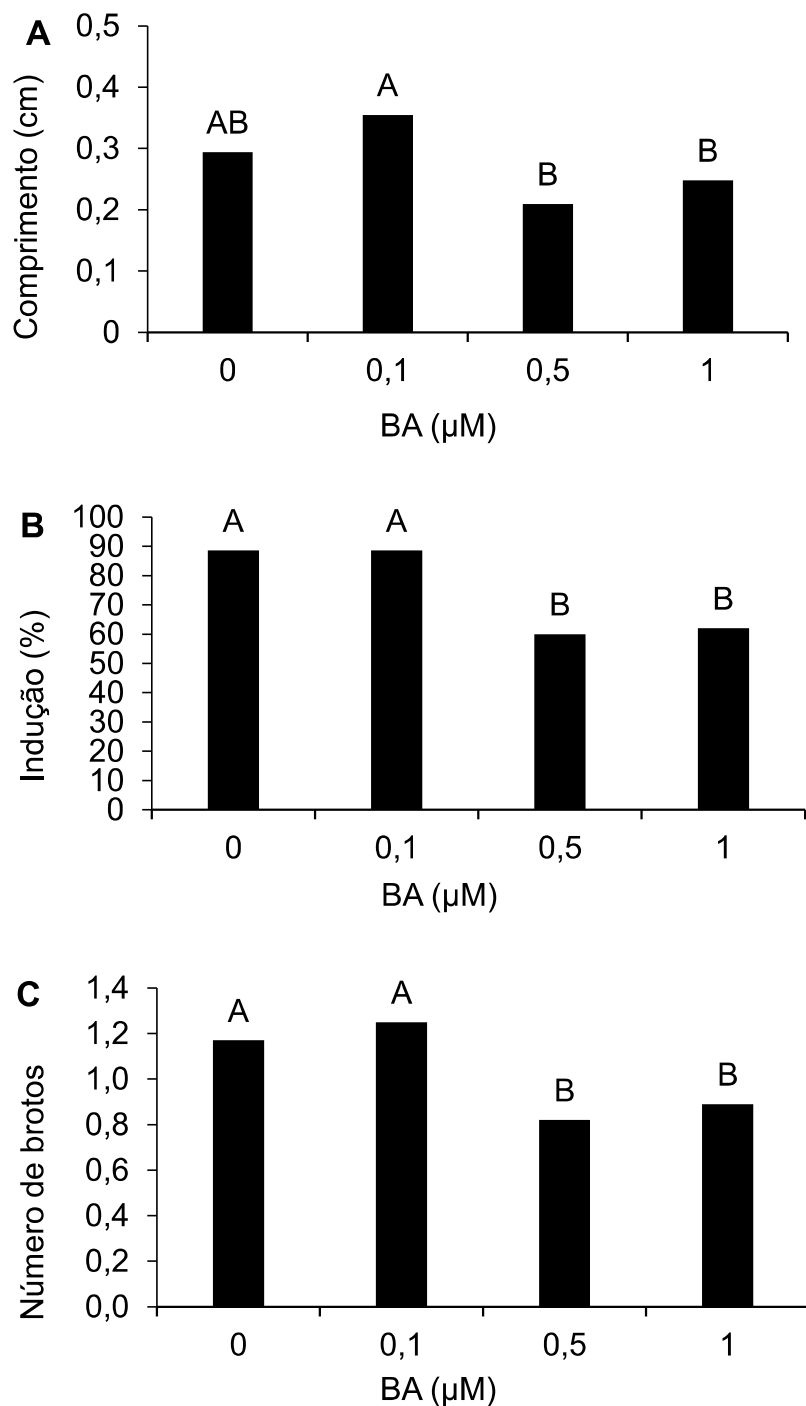


Figura 6. Comprimento (a), indução (b) e número (c) de brotações em *P. echinata* após 120 dias de incubação *in vitro* em diferentes concentrações de BA. Médias seguidas de letras diferentes apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste Tukey (Média \pm desvio padrão; n = 8, CV a = 35,98; CV b = 26,83; CV c = 32,93).

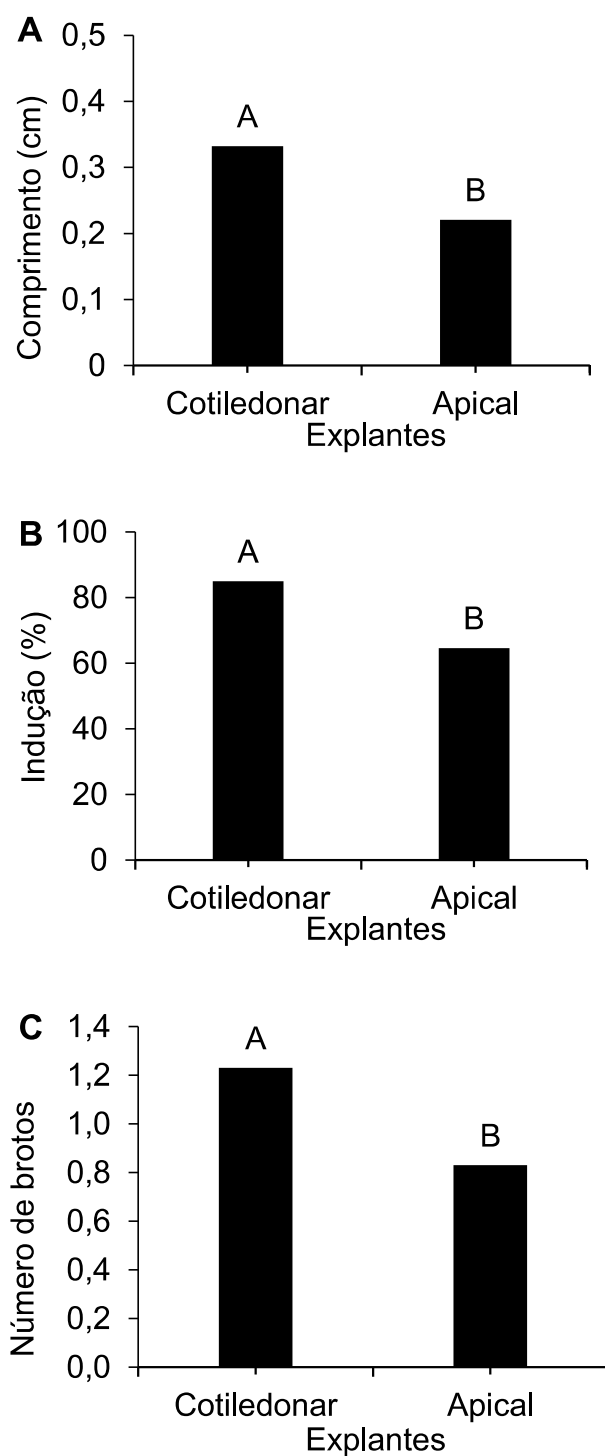


Figura 7. Comprimento (a), número (b) e indução (c) de brotações em *P. echinata* oriundas de segmentos nodais apicais e cotiledonares após 120 dias de incubação in vitro. Médias seguidas de letras diferentes apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste Tukey (Média \pm desvio padrão n = 8, CV a = 35,98; CV b = 26,83; CV c = 32,93).

4.2. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ E TIPO DE EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO DAS BROTAÇÕES

Observou-se efeito significativo no alongamento das brotações desenvolvidas a partir dos dois tipos de explantes, segmentos nodais apicais e cotiledonares, de *P. echinata* expostos sob diferentes lâmpadas LED quando comparados aos crescidos sob lâmpada fluorescente (Figuras 8 e 9). O maior alongamento das brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares (1,70 cm) foi obtido sob a lâmpada LED B/Am/V/Vd com espectros de combinação de luz Branco (B), Azul médio (Am), Vermelho (V) e Vermelho distante (Vd) em comparação à lâmpada fluorescente (0,85 cm), não diferindo significativamente das brotações mantidas na lâmpada LED B/Ab/V/Vd, com espectros de luz Branca (B), azul baixo (Ab), vermelho (V) e vermelho distante (Vd) (Figura 8A).

Comparando os dois tipos de explantes, verificou-se que as brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares apresentaram maior alongamento comparativamente aos apicais, com exceção para as brotações mantidas na lâmpada LED B/Am/V, com espectro de luz Branca (B), Azul médio (Am) e Vermelho (V), não sendo observada diferença significativa para este tratamento (Figura 8A).

O número (Figura 8B) e a indução de brotos (Figura 8C) não foram afetados significativamente pelos diferentes tipos de lâmpadas e pelo tipo de explante, segmentos apicais e cotiledonares.

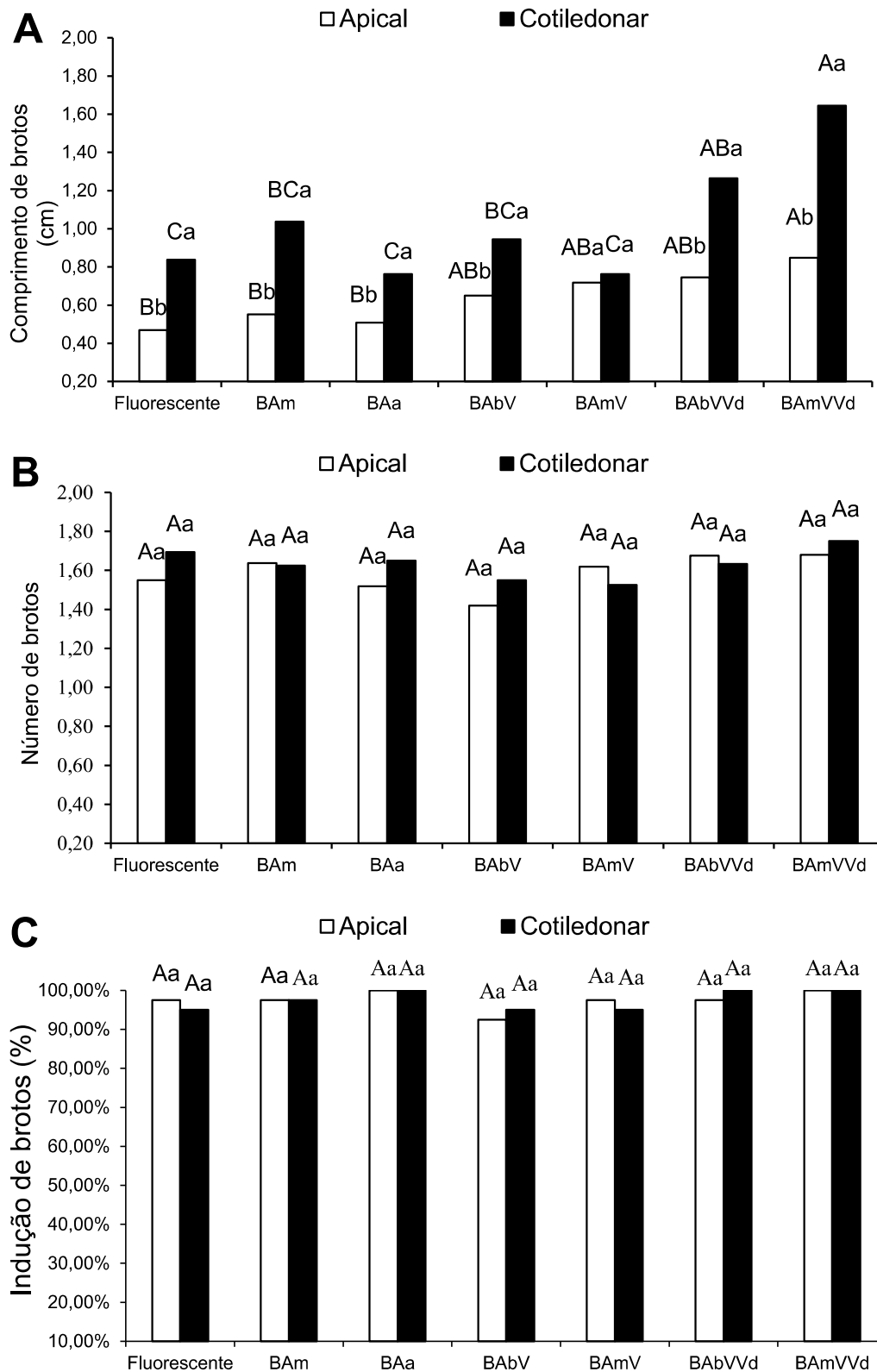


Figura 8. Comprimento (a), número (b) e indução (c) de brotações em *P. echinata* oriundas de segmentos nodais apicais e cotiledonares após 120 dias de incubação em diferentes lâmpadas com diferentes espectros de luz. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas de acordo com o tipo de explante (segmento nodal apical ou cotiledonar) nos diferentes tratamentos de lâmpadas. Letras minúsculas representam diferenças significativas entre os dois tipos de explantes (segmento nodal apical e

cotiledonar) no mesmo tratamento de lâmpadas. Médias seguidas de letras diferentes apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste Tukey (Média \pm desvio padrão; n = 8, CV a = 23,12%; CV b = 11,33%; CV c = 8,49%).



Figura 9. Aspectos morfológicos de brotações de *P. echinata* oriundas de segmentos nodais apical e cotiledonar após 120 dias de incubação em meio de cultura WPM suplementado com 0,1 μ M de BA e expostas sob lâmpadas fluorescente e LED B/Am/V/Vd. Barras = 1 cm.

Brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares em lâmpada LED B/Am/V/Vd apresentaram matéria fresca significativamente superior às brotações oriundas de segmentos nodais apicais (Figura 10). No entanto, não houve diferença significativa entre as brotações oriundas dos dois tipos de explantes incubados na lâmpada fluorescente. Ademais, não houve diferença significativa para matéria fresca das brotações oriundas de segmentos nodais apicais e/ou nodais cotiledonares comparando as duas lâmpadas testadas (Figura 10).

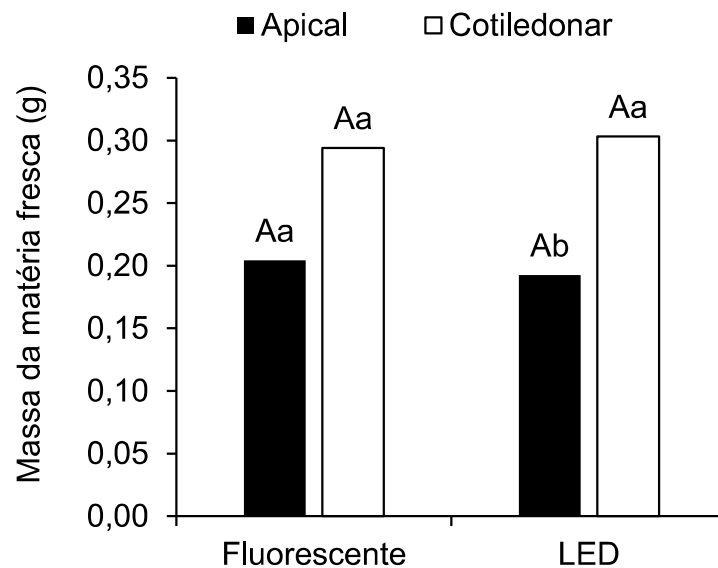


Figura 10. Massa da matéria fresca de brotações em *P. echinata* oriundas de segmentos nodais apicais e cotiledonares após 120 dias de incubação em lâmpadas LED B/Am/V/Vd e fluorescente. Médias seguidas de letras diferentes apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste SNK. Letras maiúsculas denotam diferenças para cada tipo de explante comparando entre as diferentes lâmpadas. Letras minúsculas denotam diferenças significativas entre os dois tipos de explantes para a mesma lâmpada (Média \pm desvio padrão; n = 8, CV = 28,7%).

4.3. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ NO CONTEÚDO DE PAS LIVRES EM BROTAÇÕES PROVENIENTES DE SEGMENTOS NODAIS COTILEDONARES

A partir de análise de PAs dos brotos oriundos de segmentos nodais cotiledonares incubados sob luz fluorescente (tratamento controle) e LED B/Am/V/Vd, foi possível quantificar as três principais PAs presentes em plantas. Verificou-se conteúdo significativamente superior de PAs livres totais (Figura 11A) e Put livre (Figura 11B) em brotações desenvolvidas sob a LED B/Am/V/Vd comparando-se com a lâmpada fluorescente. Em contrapartida, não foi verificado diferença estatística significativa para o conteúdo de Spd (Figura 11C) e Spm (Figura 11D) entre os dois tratamentos de lâmpadas testados.

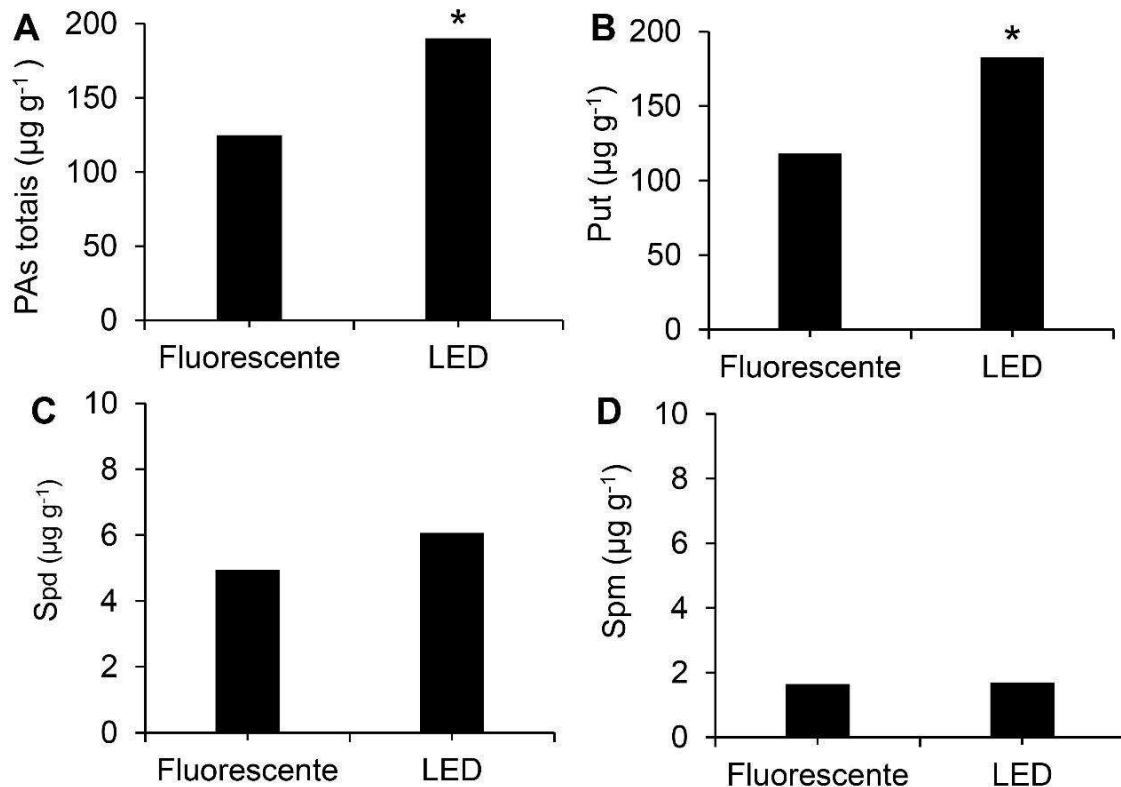


Figura 11. Conteúdo ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF) de PAs livres totais (A), Put (B), Spd (C) e Spm (D) em brotações provenientes de segmentos nodais cotiledonares de *P. echinata* aos 120 dias de crescimento *in vitro* sob os tratamentos com a lâmpada LED B/Am/V/Vd e lâmpada fluorescente. *Indica diferença significativa para o conteúdo entre os tratamentos ($P < 0,05$) pelo test t ($n = 3$).

4.4. EFEITO DO ESPECTRO DE LUZ NO CONTEÚDO DE HORMÔNIOS VEGETAIS PRESENTES EM BROTAÇÕES PROVENIENTES DE SEGMENTOS NODAIS COTILEDONARES

Verificou-se um maior conteúdo de BA, ACC e ABA nos brotos desenvolvidos a partir de segmentos cotiledonares incubados sob LED B/Am/V/Vd em comparação com a fluorescente (Figuras 12A-C), enquanto o maior conteúdo de AS ocorreu nos brotos oriundos de segmentos nodais cotiledonares cultivados sob lâmpada fluorescente (Figura 12D). Não houve diferença significativa no acúmulo de AIB, AIA, JA e GA3 em brotações incubadas nos dois tratamentos de lâmpadas testados (Figuras 12E-H).

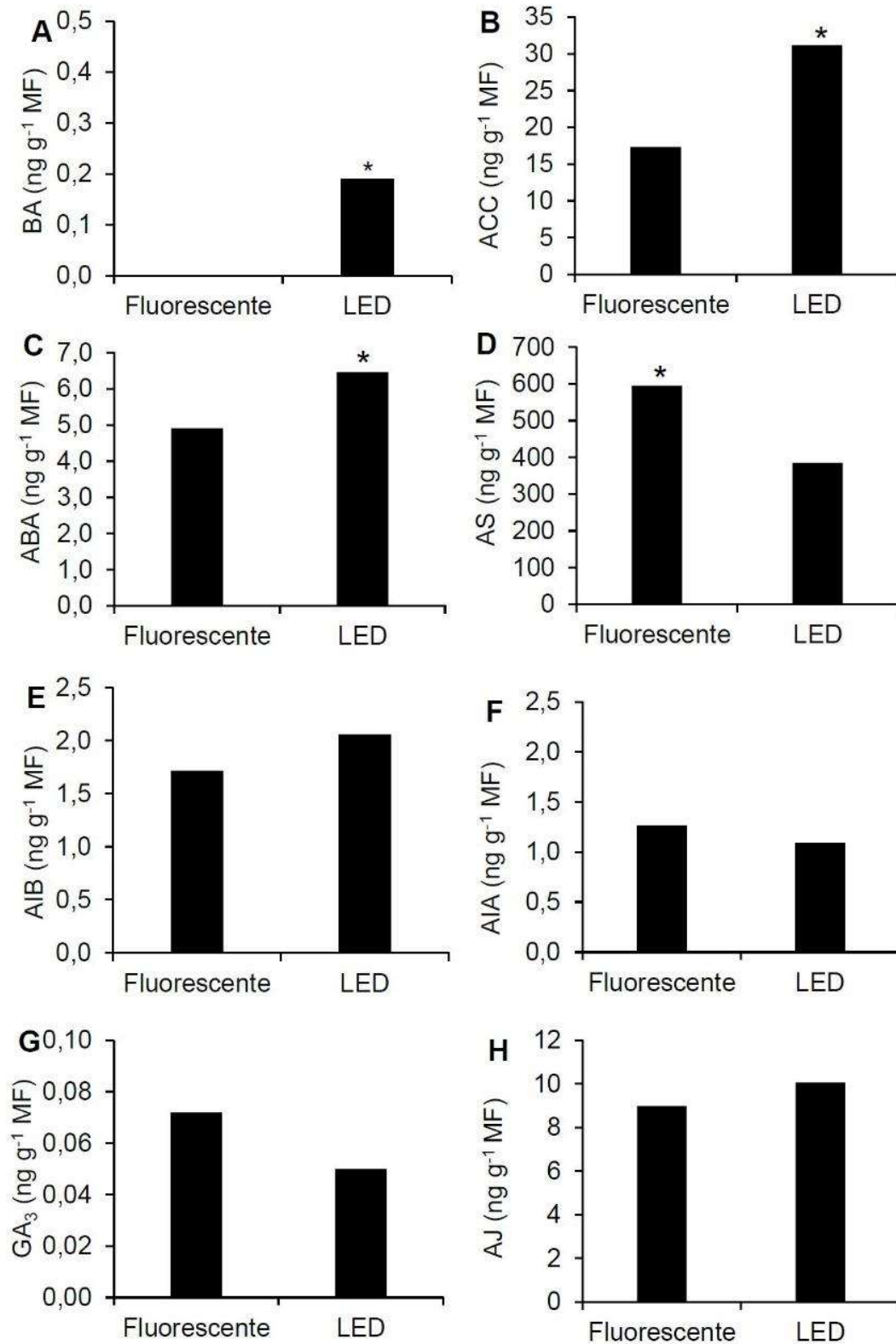


Figura 12. Conteúdo endógeno ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF) de BA (A), ACC (B), ABA (C), SA (D), AIB (E), AIA (F), JA (G) e GA₃ (H) em brotações provenientes de segmentos nodais cotiledonares de *P. echinata* aos 120 dias de crescimento *in vitro* sob os tratamentos com a lâmpada LED B/Am/V/Vd e lâmpada fluorescente. *Indica diferença significativa entre os tipos de lâmpadas ($P < 0,05$) pelo test t. (n = 5).

5. DISCUSSÃO

O tipo de explante possui efeito significativo na resposta da morfogênese *in vitro* (Silvestri et al. 2019; Rocha et al. 2024). Considerando segmentos nodais, estudos relatam efeito significativo da posição do explante obtido de segmentos nodais da plântula, como segmentos nodais cotiledonares e apicais (Aragão et al. 2017a; Aragão et al. 2017b; Pessanha et al. 2022; Lerin et al. 2019; Souza et al. 2020a). Dentre os tipos de explantes, segmento nodal cotiledonar tem sido utilizado para obtenção de brotações com maior alongamento, como observado em *C. legalis* (Lerin et al. 2019; Aragão et al. 2017b), *C. fissilis* (Aragão et al. 2016), *D. nigra* (Pessanha et al. 2022) e também em *P. echinata*.

O uso de citocinina é essencial para o desenvolvimento de gemas axilares em segmentos nodais, promovendo o desenvolvimento em brotações (Hernández-García et al. 2021; Aragão et al. 2016; Pessanha et al. 2022; Ivanova et al. 2006). Verificou-se que a adição de 2,5 µM de BA ao meio de cultura é necessária para o melhor desenvolvimento das brotações, como observado para *C. fissilis* e *D. nigra*. Em outra espécie, como *Actinidia chinensis* (Saeiahagh et al. 2019), *Actinia deliciosa* (Arruda et al. 2019), *Betula oycoviensis* (Vítamvas et al. 2020), *Myrcianthes pungens* (Souza et al. 2020b), *Campomanesia phaea* (Demétrio et al. 2021) e *Pinus koraiensis* (Liang et al. 2022), o uso de citocininas também foi importante para o desenvolvimento de brotações.

Contrariamente, em *C. legalis* o uso de BA não teve efeito significativo no alongamento das brotações (Aragão et al. 2017b), sendo necessário o uso de diferentes espectros de luz para promover melhor resposta morfogênética (Lerin et al. 2019). Em *P. echinata*, a adição de 0,1 µM de BA estimulou um alongamento das brotações, no entanto não foi significativo, sugerindo a necessidade de avaliar outros fatores como o espectro de luz, que possam promover o alongamento das brotações nesta espécie.

O espectro de luz é um fator relevante para o desenvolvimento de plantas, e influencia a morfogênese de brotações *in vitro* em espécies arbóreas, como observado para *C. fissilis* e *C. legalis* (Oliveira et al. 2020; Lerin et al. 2019), especialmente para aquelas espécies em que o uso de citocinas e outros reguladores de crescimento não promoveram um alongamento satisfatório da

brotação, como foi observado para *C. legalis* (Aragão et al. 2017b) e também em *P. echinata*.

O crescimento e desenvolvimento de brotações de *P. echinata* foi afetado significativamente por diferentes espectros de luz. A lâmpada LED B/Am/V/Vd, com a combinação de azul, vermelho e vermelho distante, proporcionou aumento significativo no comprimento dos brotos *in vitro* de *P. echinata* oriundos de segmentos nodais cotiledonares e apicais, sugerindo o efeito significativo espectro vermelho e vermelho distante. Em *C. fissilis* (Oliveira et al. 2020) e *Galesia integrifolia* (Rodrigues 2023), o uso da lâmpada LED B/Am/V contendo branco (B), azul médio (Am) e vermelho (V), promoveu melhor alongamento das brotações.

Em *C. fissilis* o uso da lâmpada LED B/Am/V induziu aumento no conteúdo endógeno de Put, assim como alterou o perfil de proteínas relacionadas à processos metabólicos, respostas à estresse, biossíntese, modificações de proteínas celulares e respostas ao estímulo à luz, resultando na promoção do alongamento das brotações (Oliveira et al. 2020). Em *G. integrifolia* a LED B/Am/V também afetou o conteúdo endógeno de PAs nas brotações, com maior conteúdo de Put e PAs livres bem como maior acúmulo de proteínas relacionadas ao ciclo de Krebs em brotações mantidas nesta lâmpada comparativamente à fluorescente (Rodrigues 2023).

Em *C. legalis*, as lâmpadas LED com os espectros de luz branca (B), azul baixo (Ab), vermelho (V) e vermelho distante (Vd) (LED B/Ab/V/Vd) e sem o vermelho distante (LED B/Ab/V) resultaram em maior alongamento das brotações oriundas de segmentos nodais cotiledonares, mostrando que a combinação dos espectros azul baixo e vermelho influenciaram a evitação ao sombreamento, estimulando o maior alongamento das brotações comparativamente à fluorescente (Lerin et al. 2019). Adicionalmente, as brotações desenvolvidas sobre a LED B/Ab/V apresentaram maior acúmulo de Put e Spd, além de apresentar proteínas relacionadas à processos metabólicos, de regulação biológica, de organização e composição celular, fotossintéticos e de resposta ao estresse (Lerin et al. 2019).

Adicionalmente, fontes de luz LED com combinações de espectro vermelho e azul proporcionaram o desenvolvimento de brotações de várias espécies, como descrito para *Camellia oleifera* (He et al. 2020), híbridos de

Corymbia sps (Souza et al. 2020a), *Swertia chirata* (Gupta e Karmakar 2017), *Prunus cerasus* e *Prunus canescens* (Sarropoulou et al. 2023).

As luzes vermelha e azul possuem uma participação relevante no desenvolvimento das plantas, uma vez que os fotorreceptores destes espectros de luz atuam na modulação da morfogênese (He et al. 2020; Silva et al. 2020), participando em diversas funções como florescimento, estiolamento, abertura estomática, movimento do cloroplasto, alongamento da raiz primária, germinação, senescência e movimento das folhas (Silva et al. 2020; Demotes-Mainard et al. 2016).

A luz azul é absorvida pelas fototropinas (Briggs e Christie 2002) e criptocromos (Canamero et al. 2006). Enquanto o primeiro permite que a planta exerça funções associadas ao fototropismo, movimento do cloroplasto e abertura estomática (Briggs e Christie 2002), os criptocromos exercem funções na floração, estiolamento, abertura estomática e alongamento da raiz primária (Bach et al. 2018).

Em contrapartida, a luz vermelha e a vermelha distante são detectadas pelos fitocromos e agem no controle da germinação, desenvolvimento estomático, transição da floração, senescência, no movimento das folhas e evitação ao sombreamento (Franklin e Quail 2009). Neste sentido, a combinação do azul e vermelho fornecido por lâmpadas LED tem contribuído na melhoria do crescimento de brotações *in vitro* em arbóreas, como observado para *C. fissilis* (Oliveira et al. 2020), *C. legalis* (Lerin et al. 2019) e *G. integrifolia* (Rodrigues 2023), e também para a *P. echinata*.

Em *P. echinata*, o maior alongamento das brotações foi estimulado essencialmente pelo espectro de luz comparativamente à adição de BA no meio de cultura, mostrando a relevância do fornecimento de espectros de luz específicos que possam melhorar o sistema de propagação *in vitro* de espécies arbóreas.

Brotações de *P. echinata* incubadas na LED B/Am/V/Vd apresentaram maior acúmulo de PAs livres totais e Put, em comparação com a luz fluorescente, e pode estar relacionado ao maior alongamento das brotações em *P. echinata*. Similarmente, em estudos com outras espécies arbóreas, como em *C. legalis* (Lerin et al. 2019), *C. fissilis* (Oliveira et al. 2020) e *G. integrifolia* (Rodrigues 2023), o acúmulo de Put e PAs livres também foram significativamente maiores

em brotações cultivadas sob LEDs com combinações de vermelho/azul. Em estudo *in vitro* com segmentos nodais de *Anoectochilus roxburghii*, as luzes monocromáticas vermelha e azul inibiram o crescimento e obtiveram maior acúmulo de PAs (Wu et al. 2022).

As PAs são moléculas policatiônicas com baixo peso molecular, que exercem funções de grande importância na cultura de tecidos vegetais (Xu et al. 2014; Vuosku et al. 2012). Em geral, as PAs contribuem para o desenvolvimento e crescimento da planta, participando de processos de divisão celular, embriogênese, enraizamento, floração, aumento do teor de clorofilas e taxa fotossintética (Nandy et al. 2022). A Put tem sido relacionada com divisão celular, importante para a transição da fase G1/S para G2/S (Weiger e Hermann 2014). Conseqüentemente, o maior conteúdo desta PA pode estimular a maior divisão em brotações resultando no maior alongamento, conforme observado para *P. echinata* e outras espécies.

A morfogênese *in vitro* é dependente de um balanço hormonal, especialmente entre auxina e citocinina, sendo a citocinina importante para regular vários processos de desenvolvimento, como crescimento de brotos e raízes. Observou-se conteúdo endógeno de BA em brotos cultivados na LED B/Am/V/Vd sugerindo uma internalização desta citocinina nesta condição, não sendo detectado nos brotos desenvolvidos sob a lâmpada fluorescente.

Apesar de existirem diversos trabalhos com o uso do BA na indução de brotos em segmentos nodais de várias espécies arbóreas, não há estudos sobre a absorção e degradação do BA em brotos de *P. echinata* cultivados sob diferentes tipos de luz. A quantidade de BA livre encontrada nos explantes, varia de acordo com as espécies (Blakesley e Constantine 1992), como em *Malus sylvestris* (Nordström e Eliasson 1986), *Musa* e *Rhododendron* (Blakesley 1991). Em *Malus sylvestris*, o BA foi absorvido na aérea dos brotos, porém permanece na parte basal do segmento nodal, atuando na estimulação do crescimento de gemas (Nordström e Eliasson 1986).

Brotos de *Ulmus campestris* cultivados *in vitro* absorveram BA rapidamente (cerca de 30 min), e após 6 h, esta citocinina é degradada em adenina por clivagem de cadeia lateral (Biondi et al. 1984). Em *Arabidopsis thaliana* foi observado uma redução no conteúdo de citocinina, que conseqüentemente causou aumento ao estresse fotooxidativo e diminuição da

atividade fotossintética após o tratamento da planta com alta luz (Cortleven et al. 2014).

Em *P. echinata*, a diferença de acúmulo de BA nos brotos pode ter ocorrido pelo maior fluxo luminoso da luz emitida pela lâmpada fluorescente comparado à LED, resultando em maior degradação desta lâmpada fluorescente. As lâmpadas do tipo LED (4,5 W) liberam menos calor e utilizam menos energia, e possuem menor fluxo luminoso, com 160 lm, enquanto o fluxo luminoso das lâmpadas fluorescente (15 W) é de 316 lm (Santos et al. 2015). Em *Triticum aestivum* foi mostrado que a baixa razão de luz vermelha/vermelha distante promoveu a redução do conteúdo de citocinina na planta (Lei et al. 2022). Neste sentido, pode-se sugerir que a baixa concentração de BA nos brotos de *P. echinata* desenvolvidos sob a lâmpada fluorescente pode ser devido a uma possível degradação do BA decorrente de um alto fluxo luminoso oriundo da lâmpada fluorescente.

Na biossíntese de etileno, a metionina é convertida em S-adenosilmetionina (SAM), que em seguida é convertida em ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico (ACC) e esse converte-se em etileno (Bleecker e Kende 2000). Em *P. echinata* a concentração de ACC foi maior nos brotos cultivados sob a LED B/Am/V/Vd, sugerindo um possível aumento de etileno, o qual pode ter favorecido a resposta morfogênica nesta espécie. Um atraso na resposta morfogênica para diferenciação de brotos *in vitro* observado em *P. edulis* f. *flavicarpa* em comparação com *P. cincinnata* foi associado com a produção de níveis elevados de etileno e de Spd e Spm durante a indução da organogênese (Dias et al. 2009).

A metionina também é precursora da síntese de PAs pela via SAM, através da doação de grupos aminopropil para a síntese de Spd a partir da Put, e de Spm a partir da Spd (Kusano et al. 2008). Este aumento no acúmulo de ACC nos brotos desenvolvidos sob a LED comparado com a fluorescente sugere que a SAM pode ter atuado na síntese de ACC ao invés das PAs Spd e Spm, uma vez que não houve aumento significativo destas PAs. Provavelmente este ACC esteja sendo usado para a síntese de etileno. No entanto, é necessária uma análise do conteúdo de etileno para comprovar esta hipótese.

O ABA é um importante regulador em respostas das plantas a estresses ambientais (Kang et al. 2009), bem como na maturação (Niu et al. 2022) e

dormência de sementes (Wang et al. 2016). No entanto, pouco é conhecido sobre o envolvimento da luz no acúmulo de ABA na morfogênese *in vitro*. Os brotos de segmentos cotiledonares de *P.echinata* cultivados sob LED B/Am/V/Vd apresentaram maior conteúdo de ABA ao comparar com os brotos desenvolvidos pela lâmpada fluorescente.

Na cultura *in vitro*, foi mostrado que o conteúdo endógeno de ABA foi maior em brotações de *C. fissilis* na primeira subcultura, quando apresentaram maior crescimento e potencial de enraizamento, comparativamente às da quarta subcultura (Oliveira et al 2022). O maior conteúdo de ABA observado em brotações na lâmpada LED pode estar associado ao melhor alongamento destes brotos, embora ainda não se conheça como o ABA pode influenciar o desenvolvimento de gemas axilares *in vitro*.

Ao contrário do BA, ACC e ABA, o maior conteúdo de SA foi observado nos brotos mantidos na luz fluorescente. SA é um hormônio vegetal que atua na resposta ao estresse, participando da defesa e crescimento das plantas (Ahmad et al. 2019; Elsisi et al. 2024; Seyfferth e Tsuda 2014). Estudos relatam a importância do SA no aumento da resistência das plantas a estresses bióticos e abióticos (Benjamin et al. 2022; Khan et al. 2022). Em *C. fissilis*, o conteúdo endógeno de SA significativamente maior em brotações na quarta subcultura comparativamente à primeira foi relacionado à redução do crescimento da brotação e potencial de enraizamento desses brotos (Oliveira et al. 2022). O SA atua na redução da concentração de auxina, necessária para indução do enraizamento (De Klerk et al. 2011).

Em *P. echinata*, o maior conteúdo de SA em brotações mantidas na lâmpada fluorescente pode ter sido uma resposta ao maior calor e maior fluxo luminoso nesta lâmpada comparada à LED (Santos et al 2015). Conseqüentemente, o maior conteúdo de SA apresentou impacto negativo no crescimento das brotações de *P. echinata*.

6. CONCLUSÕES

Através deste estudo conclui-se que os espectros de luz das lâmpadas LED com combinação de branco (B), azul médio (Am), vermelho (V) e vermelho distante (Vd), proporcionaram melhor alongamento das brotações oriundas de

segmentos nodais cotiledonares. Este aumento foi associado a um maior conteúdo endógeno de Put, PAs livres totais, BA, ACC e ABA, e menor conteúdo de SA nos brotos desenvolvidos sob a LED B/Am/V/Vd. Os resultados obtidos nesse estudo são inéditos para *P. echinata* e são relevantes para estabelecer um sistema de propagação *in vitro* para essa importante espécie brasileira.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad F, Singh A, Kamal A (2019) Chapter 23 - Salicylic Acid–Mediated Defense Mechanisms to Abiotic Stress Tolerance. In: Khan MIR, Reddy PS, Ferrante A, Khan NA (eds) Plant Signaling Molecules. Woodhead Publishing, pp 355-369. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00022-8>
- Alcázar R, Altabella T, Marco F, Bortolotti C, Reymond M, Koncz C, Carrasco P, Tiburcio AF (2010) Polyamines: Molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta* 231 (2010):1237–1249. doi:10.1007/s00425-010-1130-0
- Alves ES, Longui EL, Amano E (2008) Pernambuco wood (*Caesalpinia echinata*) used in the manufacture of bows for string instruments. *IAWA Journal* 29 (3):323-335 doi:10.1163/22941932-90000190
- Aragão VPM, de Souza Ribeiro YR, Reis RS, Macedo AF, Floh EIS, Silveira V, Santa-Catarina C (2016) *In vitro* organogenesis of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae): the involvement of endogenous polyamines and carbohydrates on shoot development. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 124 (3):611–620. doi:10.1007/s11240-015-0919-8
- Aragão VPM, Navarro BV, Silva AT, Silveira V, Santa-Catarina C (2017a) Micropropagation of *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze, an endangered hardwood tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Plant Cell Cult Micropropag* 13 (2):41-50
- Aragão VPM, Reis RS, Silveira V, Santa-Catarina C (2017b) Putrescine promotes changes in the endogenous polyamine levels and proteomic profiles to regulate organogenesis in *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 130 (3):1-11. doi:10.1007/s11240-017-1239-y
- Arruda AL, Buss M, Nerbass FR, Rufato L (2019) Concentrações de citocinina influenciam a multiplicação *in vitro* de kiwizeiro. *Evidência* 19 (1):45-56. doi:10.18593/eba.v19i1.19723
- Asghar S, Ghori N, Hyat F, Li Y, Chen C (2023) Use of auxin and cytokinin for somatic embryogenesis in plant: a story from competence towards completion. *Plant Growth Regulation* 99 (3):413-428. doi:10.1007/s10725-022-00923-9
- Bach A, Kapczyńska A, Dziurka K, Dziurka M (2018) The importance of applied light quality on the process of shoot organogenesis and production of phenolics and carbohydrates in *Lachenalia* sp. cultures *in vitro*. *South African Journal of Botany* 114:14-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.10.015>

- Bae G, Choi G (2008) Decoding of Light Signals by Plant Phytochromes and Their Interacting Proteins. 59 (Volume 59, 2008):281-311. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092859>
- Baptista JO, Alexandre RS, de Lima PAM, Lopes SdO, de Araujo CP, de Oliveira CdMB, Lopes JC (2022) Luminosity, temperature, and substrates on the germination of *Solanum capsicoides*. Bioscience Journal 38:e38061. doi:10.14393/BJ-v38n0a2022-59385
- Baron K, Stasolla C (2008) The role of polyamines during *in vivo* and *in vitro* development. In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant, vol 44. doi:10.1007/s11627-008-9176-4
- Batista DS, Felipe SHS, Silva TD, de Castro KM, Mamedes-Rodrigues TC, Miranda NA, Ríos-Ríos AM, Faria DV, Fortini EA, Chagas K, Torres-Silva G, Xavier A, Arencibia AD, Otoni WC (2018) Light quality in plant tissue culture: does it matter? In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant, vol 54. doi:10.1007/s11627-018-9902-5
- Benjamin G, Pandharikar G, Frendo P (2022) Salicylic Acid in Plant Symbioses: Beyond Plant Pathogen Interactions. 11 (6):861
- Biondi S, Canciani L, Bagni N (1984) Uptake and translocation of benzyladenine by elm shoots cultured in vitro. Canadian Journal of Botany 62 (11):2385-2390. doi:10.1139/b84-325
- Birnbaum KD, Alvarado AS (2008) Slicing across Kingdoms: Regeneration in Plants and Animals. Cell 132 (4):697-710. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.040>
- Blakesley D (1991) Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in shoot cultures of *Musa* and *Rhododendron*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 25 (1):69-74. doi:10.1007/BF00033915
- Blakesley D, Constantine D (1992) Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in shoot cultures of a range of species. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 28 (2):183-186. doi:10.1007/BF00055515
- Bleecker AB, Kende H (2000) Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. Annual review of cell and developmental biology 16:1-18. doi:10.1146/annurev.cellbio.16.1.1
- Borges LA, Sobrinho MS, Lopes AV (2009) Phenology, pollination, and breeding system of the threatened tree *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae), and a review of studies on the reproductive biology in the genus. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 204 (2):111-130. doi:<https://doi.org/10.1016/j.flora.2008.01.003>
- Briggs WR, Christie JM (2002) Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. Trends in Plant Science 7 (5):204-210. doi:[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02245-8](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02245-8)
- Canamero RC, Bakrim N, Bouly J-P, Garay A, Dudkin EE, Habricot Y, Ahmad M (2006) Cryptochrome photoreceptors cry1 and cry2 antagonistically regulate primary root elongation in *Arabidopsis thaliana*. Planta 224 (5):995-1003. doi:10.1007/s00425-006-0280-6
- Chen L-l, Wang H-y, Gong X-c, Zeng Z-h, Xue X-z, Hu Y-g (2021) Transcriptome analysis reveals effects of red and blue light-emitting diodes (LEDs) on the growth, chlorophyll fluorescence and endogenous plant hormones of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets cultured *in vitro*. Journal of Integrative Agriculture 20 (11):2914-2931. doi:[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63393-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63393-7)

- Cortleven A, Nitschke S, Klaumünzer M, Abdelgawad H, Asard H, Grimm B, Riefler M, Schmölling T (2014) A novel protective function for cytokinin in the light stress response is mediated by the Arabidopsis histidine kinase2 and Arabidopsis histidine kinase3 receptors. *Plant Physiol* 164 (3):1470-1483. doi:10.1104/pp.113.224667
- Costa PR (2018) Aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos na propagação *in vitro* e no armazenamento de sementes em espécies arbóreas nativas da mata atlântica: Morphological, histochemical and biochemical aspects of somatic embryogenesis induction from immature seeds of *Paubrasilia echinata* (Lam.) E. Gagnon, H. C. Lima G. P. Lewis (FABACEAE): the national tree of Brazil.
- Darko E, Heydarizadeh P, Schoefs B, Sabzalian MR (2014) Photosynthesis under artificial light: The shift in primary and secondary metabolism. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol 369. doi:10.1098/rstb.2013.0243
- De Klerk G-J, Guan H, Huisman P, Marinova S (2011) Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* 'Jork 9'. *Plant Growth Regulation* 63 (2):175-185. doi:10.1007/s10725-010-9555-9
- Demétrio CA, de Oliveira Jacob JF, Ambrosano GB, de Oliveira ÊT, Rodrigues PHV (2021) *In vitro* propagation of cambuci (*Campomanesia phaea*): An endangered exotic fruit and ornamental plant from Brazilian Atlantic Forest. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 145 (1):203-208. doi:10.1007/s11240-020-02002-1
- Demotes-Mainard S, Péron T, Corot A, Bertheloot J, Le Gourrierec J, Pelleschi-Travier S, Crespel L, Morel P, Huché-Thélier L, Boumaza R, Vian A, Guérin V, Leduc N, Sakr S (2016) Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany* 121:4-21. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010>
- Dias LLC, Santa-Catarina C, Ribeiro DM, Barros RS, Floh EIS, Otoni WC (2009) Ethylene and polyamine production patterns during *in vitro* shoot organogenesis of two passion fruit species as affected by polyamines and their inhibitor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 99 (2):199-208. doi:10.1007/s11240-009-9594-y
- Elsisi M, Elshiekh M, Sabry N, Aziz M, attia K, Islam F, Chen J, Abdelrahman M (2024) The genetic orchestra of salicylic acid in plant resilience to climate change induced abiotic stress: critical review. *Stress Biology* 4 (1):31. doi:10.1007/s44154-024-00160-2
- Endres L, Marroquim PMG, Santos CMd, Souza NNFd (2007) Enraizamento de estacas de Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) tratadas com ácido indol butírico e ácido naftaleno acético. *Ciência Rural* 37
- Esser LF, Saraiva DD, Jarenkow JA (2019) Future uncertainties for the distribution and conservation of *Paubrasilia echinata* under climate change. *Acta Botanica Brasilica* 33 (4):770-776. doi:10.1590/0102-33062019abb0173
- Fan C, Manivannan A, Wei H (2022) Light Quality-Mediated Influence of Morphogenesis in Micropropagated Horticultural Crops: A Comprehensive Overview. *BioMed research international* 2022:4615079. doi:10.1155/2022/4615079

- Farrokhzad Y, Babaei A, Yadollahi A, Kashkooli AB, Mokhtassi-Bidgoli A, Hesami S (2022) *In vitro* photomorphogenesis, plant growth regulators, melatonin content, and DNA methylation under various wavelengths of light in *Phalaenopsis amabilis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 149 (3):535–548. doi:10.1007/s11240-022-02272-x
- Franklin KA, Quail PH (2009) Phytochrome functions in Arabidopsis development. *Journal of Experimental Botany* 61 (1):11-24. doi:10.1093/jxb/erp304 %J Journal of Experimental Botany
- Fundação S. O. S. Mata Atlântica (2022) Relatório Anual de atividades 2021. São Paulo: SOS Mata Atlântica. <https://www.sosma.org.br/sobre/relatorios-e-balancos>. Acesso em 04 mar 2024
- Gagnon E, Bruneau A, Hughes CE, de Queiroz LP, Lewis GP (2016) A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). *PhytoKeys* 71 (1):1–160. doi:10.3897/phytokeys.71.9203
- Gagnon E, Bruneau, A., Hughes, C.E., Queiroz, L.P. & G.P. Lewis, *PhytoKeys* (2016) *Paubrasilia echinata* (Lam.) Gagnon, H.C.Lima & G.P.Lewis. *REFLORA* 71:1-160
- Galvão VC, Fankhauser C (2015) Sensing the light environment in plants: Photoreceptors and early signaling steps. *Current Opinion in Neurobiology*, vol 34. doi:10.1016/j.conb.2015.01.013
- Gnasekaran P, Rahman ZA, Chew BL, Uddain J, Mariappan V, Appalasamy S, Subramaniam S (2022) Regulation of chloroplast ultrastructure, adventitious bud anatomy and clonal fidelity of *in vitro* *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade plantlets in response to LED spectral quality. *Industrial Crops and Products* 181. doi:10.1016/j.indcrop.2022.114825
- Gonzatti F (2018) Inventário florístico de samambaias e licófitas de um remanescente de Mata Atlântica no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rodriguésia* 69 (4):1893-1908. doi:10.1590/2175-7860201869425
- Gupta SD, Jatothu B (2013) Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) *in vitro* plant growth and morphogenesis. *Plant Biotechnology Reports*, vol 7. doi:10.1007/s11816-013-0277-0
- Gupta SD, Karmakar A (2017) Machine vision based evaluation of impact of light emitting diodes (LEDs) on shoot regeneration and the effect of spectral quality on phenolic content and antioxidant capacity in *Swertia chirata*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 174:162-172. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.029>
- He C, Zeng Y, Fu Y, Wu J, Liang Q (2020) Light quality affects the proliferation of *in vitro* cultured plantlets of *Camellia oleifera* Huajin. *PeerJ* 8:e10016. doi:10.7717/peerj.10016
- Hellmann ME, Mello JIO, Figueiredo-Ribeiro RCL, Barbedo CJ (2006) Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial. *Brazilian Journal of Botany* 29
- Hernández-García A, Ambriz-Parra E, López-Albarrán P, Cruz-de León J, Salgado-Garciglia R (2021) *In vitro* propagation from axillary buds of the endangered tree *Dalbergia congestiflora* Pittier (Fabaceae). *Plant biotechnology (Tokyo, Japan)* 38 (4):409-414. doi:10.5511/plantbiotechnology.21.0901a
- Huang C-Y, Wang H, Hu P, Hamby R, Jin H (2019) Small RNAs; Big Players in Plant-Microbe Interactions. *Cell Host & Microbe* 26 (2):173-182. doi:10.1016/j.chom.2019.07.021

- IBGE (2021) Censo Brasileiro de 2021 Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/pib.php>. Acesso em 30 de março de 2024
- IUCN (2024) *Paubrasilia echinata*.
- Ivanova M, Novák O, Strnad M, Van Staden J (2006) Endogenous cytokinins in shoots of *Aloe polyphylla* cultured *in vitro* in relation to hyperhydricity, exogenous cytokinins and gelling agents. *Plant Growth Regulation* 50 (2):219-230. doi:10.1007/s10725-006-9139-x
- Jung WS, Chung IM, Hwang MH, Kim SH, Yu CY, Ghimire BK (2021) Application of light-emitting diodes for improving the nutritional quality and bioactive compound levels of some crops and medicinal plants. *Molecules* 26 (5):1477. doi:10.3390/molecules26051477
- Kang CY, Lian HL, Wang FF, Huang JR, Yang HQ (2009) Cryptochromes, phytochromes, and COP1 regulate light-controlled stomatal development in *Arabidopsis*. *The Plant cell* 21 (9):2624-2641. doi:10.1105/tpc.109.069765
- Khan MIR, Poor P, Janda T (2022) Salicylic Acid: A Versatile Signaling Molecule in Plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 41 (5):1887-1890. doi:10.1007/s00344-022-10692-4
- Kong Y, Zheng Y (2020) Phototropin is partly involved in blue-light-mediated stem elongation, flower initiation, and leaf expansion: A comparison of phenotypic responses between wild *Arabidopsis* and its phototropin mutants. *Environmental and Experimental Botany* 171:103967. doi:10.1016/j.envexpbot.2019.103967
- Krikorian AD (1995) Hormones in Tissue Culture and Micropropagation. In: Davies PJ (ed) *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 774-796. doi:10.1007/978-94-011-0473-9_35
- Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y (2008) Polyamines: Essential factors for growth and survival. *Planta*, vol 228. doi:10.1007/s00425-008-0772-7
- Kusuma P, Bugbee B (2021) Far-red fraction: An improved metric for characterizing phytochrome effects on morphology. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 146 (1):3–13. doi:10.21273/JASHS05002-20
- Lei K, Tan Q, Zhu L, Xu L, Yang S, Hu J, Gao L, Hou P, Shao Y, Jiang D, Cao W, Dai T, Tian Z (2022) Low red/far-red ratio can induce cytokinin degradation resulting in the inhibition of tillering in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in plant science* 13:971003. doi:10.3389/fpls.2022.971003
- Lerin J, Aragão VPM, Reis RS, Silveira V, Santa-Catarina C (2019) Proteomic profile and polyamine contents are modulated by light source to promote *in vitro* shoot development in *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze (Lecythidaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 137:329-342
- Liang Y, Bai X, Xu X, Xu H, Wang J, Pan P (2022) Direct *in vitro* organogenesis from sprouted seeds of a highly economical and ecological valued tree, Korean pine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 148 (1):197-207. doi:10.1007/s11240-021-02164-6
- Lloyd G, McCown B (1980) Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. *International Plant Propagators' Society Proceedings* 30:421-427

- Lorenzi H (1992) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Lorenzi, H.
- Martinelli G, Moraes M (2013) Livro vermelho da flora do Brasil. ... de Conservação da Flora, Rio de doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2
- Mello JldO, Figueiredo-Ribeiro RdCL, Barbedo CJ (2013) Sub-zero temperature enables storage of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. Journal of Seed Science 35
- Mescia TB, Louro RP, Barbedo CJ, Carbonero ER, Figueiredo-Ribeiro RdCL, Braga MR (2022) Changes in cell wall composition and ultrastructure related to desiccation during the seed maturation of *Paubrasilia echinata* (brazilwood). Protoplasma 259 (5):1255-1269. doi:10.1007/s00709-021-01731-0
- Murashige T, Skoog F (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum 15 (3):473-497. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Myers N, Mittermeier² RA, Mittermeier² CG, Da Fonseca³ GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. NATURE 403
- Nandy S, Das T, Tudu CK, Mishra T, Ghorai M, Gadekar VS, Anand U, Kumar M, Behl T, Shaikh NK, Jha NK, Shekhawat MS, Pandey DK, Dwivedi P, Radha, Dey A (2022) Unravelling the multi-faceted regulatory role of polyamines in plant biotechnology, transgenics and secondary metabolomics. Applied microbiology and biotechnology 106 (3):905-929. doi:10.1007/s00253-021-11748-3
- Niu L, Du C, Wang W, Zhang M, Wang W, Liu H, Zhang J, Wu X (2022) Transcriptome and co-expression network analyses of key genes and pathways associated with differential abscisic acid accumulation during maize seed maturation. BMC Plant Biology 22 (1):359. doi:10.1186/s12870-022-03751-1
- Nordström A-C, Eliasson LJPP (1986) Uptake and translocation of [14C]-labelled benzylaminopurine in apple shoots grown in vitro in relation to shoot development. 68:431-435
- Oliveira T, Balfagón D, Sousa KRd, Aragão VPM, de Oliveira LF, Floh EIS, Silveira V, Gómez-Cadenas A, Santa-Catarina C (2022) Long-term subculture affects rooting competence via changes in the hormones and protein profiles in *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) shoots. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 148 (1):137–153. doi:10.1007/s11240-021-02172-6
- Oliveira TdR, Aragão VPM, Moharana KC, Fedosejevs E, do Amaral FP, Sousa KR, Thelen JJ, Venâncio TM, Silveira V, Santa-Catarina C (2020) Light spectra affect the *in vitro* shoot development of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) by changing the protein profile and polyamine contents. Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics 1868 (12). doi:10.1016/j.bbapap.2020.140529
- Ostrolucká MG, Libiaková G, Ondrušková E, Gajdošová A (2004) *In vitro* propagation of *Vaccinium species*. Acta Universitatis Latviensis, Biology 676:207–212
- Paik I, Huq E (2019) Plant photoreceptors: Multi-functional sensory proteins and their signaling networks. Seminars in cell & developmental biology 92:114-121. doi:10.1016/j.semcdb.2019.03.007

- Pessanha LdS, Paulo Mesquita Aragão V, dos Reis de Oliveira T, Rodrigues de Sousa K, Silveira V, Santa-Catarina C (2022) Benzyladenine affects polyamine contents and proteomic profiles during *in vitro* shoot development and *ex vitro* rooting in *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. (Fabaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 151:75–92. doi:10.1007/s11240-022-02332-2
- Planalto (2006) LEI Nº 11.428, DE 22 DE DEZEMBRO DE 2006.
- Pulianmackal AJ, Kareem AVK, Durgaprasad K, Trivedi ZB, Prasad K (2014) Competence and regulatory interactions during regeneration in plants. 5. doi:10.3389/fpls.2014.00142
- Ramos JCM, Ribeiro LM, Nunes GP, Soares JS, Sorgato JC (2023) In vitro and ex vitro production of *Schomburgkia crispa*: Effect of flask sealing systems and different light sources. *Rodriguésia* 74:e01062022
- República Pd (1978) LEI Nº 6.607, DE 7 DE DEZEMBRO DE 1978.
- Rocha T, Paiva R, de Souza AR, da Silva BTS, Rodrigues HAF, Brito IICdB, da Silva GAdS, Herrera RC (2024) Diferentes Explantes e Reguladores de Crescimento na Indução de Calos em *Dipteryx odorata* (Aubl.) Forsyth F. v. 28 n. 1. doi:<https://doi.org/10.17921/1415-6938.2024v28n1p12-16>
- Rodrigues MS (2023) Aspectos bioquímicos e fisiológicos associados à qualidade espectral da luz no desenvolvimento de brotações *in vitro* de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms (Phytolaccaceae). UENF
- Saeiahagh H, Mousavi M, Wiedow C, Bassett HB, Pathirana R (2019) Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micropropagation of ‘Zes006’ *Actinidia chinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 138 (1):1-10. doi:10.1007/s11240-019-01597-4
- Santa-Catarina C, Maciel SDAC, Pedrotti EL (2001) Germinação *in vitro* e embriogênese somática a partir de embriões imaturos de canela sassafrás (*Ocotea odorifera* Mez). *Brazilian Journal of Botany* 24
- Santos TSd, Batista MC, Pozza SA, Rossi LS (2015) Análise da eficiência energética, ambiental e econômica entre lâmpadas de LED e convencionais. *Engenharia Sanitaria e Ambiental* 20
- Sarropoulou V, Sperdouli I, Adamakis I-D, Grigoriadou K (2023) The use of different LEDs wavelength and light intensities for *in vitro* proliferation of cherry rootstock: influence on photosynthesis and photomorphogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 152 (2):317-330. doi:10.1007/s11240-022-02408-z
- Seyfferth C, Tsuda K (2014) Salicylic acid signal transduction: the initiation of biosynthesis, perception and transcriptional reprogramming. 5. doi:10.3389/fpls.2014.00697
- Shi C, Liu H (2021) How plants protect themselves from ultraviolet-B radiation stress. *Plant Physiology* 187 (3):1096–1103. doi:10.1093/plphys/kiab245
- Silva TD, Batista DS, Fortini EA, Castro KMd, Felipe SHS, Fernandes AM, Sousa RMdJ, Chagas K, Silva JVSd, Correia LNdf, Farias LM, Leite JPV, Rocha DI, Otoni WC (2020) Blue and red light affects morphogenesis and 20-hydroxyecdysone content of *in vitro* *Pfaffia glomerata* accessions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 203:111761. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111761>
- Silveira V, Balbuena TS, Santa-Catarina C, Floh EIS, Guerra MP, Handro W (2004) Biochemical changes during seed development in *Pinus taeda* L.

- Plant Growth Regulation 44 (2):147-156.
doi:10.1023/B:GROW.0000049410.63154.ed
- Silvestri C, Caceres ME, Ceccarelli M, Pica AL, Rugini E, Cristofori V (2019) Influence of Continuous Spectrum Light on Morphological Traits and Leaf Anatomy of Hazelnut Plantlets. *Front Plant Sci* Volume 10. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01318>
- Skoog F, Miller CO (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11:118-130
- SOS MA (2024) A Mata Atlântica é a floresta mais devastada do Brasil.
- Souza DMSCS, Xavier A, Miranda NA, Gallo R, dos Santos GA, Valente BMdRT, Otoni WC (2020a) Photomixotrophism on *in vitro* elongation of *Corymbia* hybrid clones. *Scientia Forestalis*. doi:<https://doi.org/10.18671/scifor.v48n128.11>
- Souza LdSd, Campos SSd, Avrella ED, Fior CS, Schwarz SF (2020b) *In Vitro* Rooting and Multiplication of *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand. *Floresta e Ambiente* 27. doi:<https://doi.org/10.1590/2179-8087.111917>
- Team RC (2018) *A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Vettorazzi RG (2021) Aspectos morfológicos e bioquímicos associados ao desenvolvimento da semente e germinação e na indução da embriogênese somática direta em *Paubrasilia echinata* Lam E. Gagnon, H. C. Lima G. P. Lewis (FABACEAE).
- Viczián A, Klose C, Ádám É, Nagy F (2017) New insights of red light-induced development. *Plant Cell and Environment*. doi:10.1111/pce.12880
- Vieira Ldn, Fraga HPdF, dos Anjos KG, Puttkammer CC, Scherer RF, da Silva DA, Guerra MP (2015) Light-emitting diodes (LED) increase the stomata formation and chlorophyll content in *Musa acuminata* (AAA) 'Nanicão Corupá' *in vitro* plantlets. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 27 (2):91-98. doi:10.1007/s40626-015-0035-5
- Vítamvas J, Kunes I, Viehmannova I, Linda R, Balas M (2020) Conservation of *Betula oycoviensis*, an endangered rare taxon, using vegetative propagation methods. *iForest - Biogeosciences and Forestry* 13 (2):107-113. doi:10.3832/ifer3243-013
- Vuosku J, Suorsa M, Ruottinen M, Sutela S, Muilu-Mäkelä R, Julkunen-Tiitto R, Sarjala T, Neubauer P, Häggman H (2012) Polyamine metabolism during exponential growth transition in Scots pine embryogenic cell culture. *Tree Physiology* 32 (10):1274-1287. doi:10.1093/treephys/tps088 %J Tree Physiology
- Wang D, Gao Z, Du P, Xiao W, Tan Q, Chen X, Li L, Gao D (2016) Expression of ABA Metabolism-Related Genes Suggests Similarities and Differences Between Seed Dormancy and Bud Dormancy of Peach (*Prunus persica*). 6. doi:10.3389/fpls.2015.01248
- Weiger TM, Hermann A (2014) Cell proliferation, potassium channels, polyamines and their interactions: a mini review. *Amino acids* 46 (3):681-688. doi:10.1007/s00726-013-1536-7
- Wit MD, Pierik R (2016) Photomorphogenesis and photoreceptors. In *Canopy photosynthesis: from basics to applications*. Springer, Dordrecht:171-186
- Wu D, Liu M, Yu W, Cui M, Huang X, Ning F, Chingin K, Luo L (2022) Red:Blue LED light proportion affects biomass accumulation and polyamine

metabolism in *Anoectochilus roxburghii* studied by nano-electrospray ionization mass spectrometry. *Industrial Crops and Products* 188:115636. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115636>

Xu L, Xing ST, Sun XZ, Guo JE, Xu DH (2014) Effects of Polyamines on Hormones Contents and the Relationship with the Flower Bud Differentiation in *Chrysanthemum*. *Zhiwu Shengli Xuebao/Plant Physiology Journal* 50:1195-1202. doi:10.13592/j.cnki.ppj.2014.0212