

# VARIAÇÃO NA ANATOMIA FOLIAR DE PLÂNTULAS DE IPÊ-BRANCO *in vitro* e ACLIMATIZADAS EM DIFERENTES SUBSTRATOS

JORGE MARCELO PADOVANI PORTO<sup>1</sup>, PATRICIA DUARTE DE OLIVEIRA PAIVA<sup>2</sup>,  
RENATO PAIVA<sup>3</sup>, DAIANE PEIXOTO VARGAS<sup>4</sup>, EVARISTO MAURO DE CASTRO<sup>5</sup>,  
FRANCYANE TAVARES BRAGA<sup>6</sup>

## RESUMO

O conhecimento das alterações morfológicas de plantas desenvolvidas *in vitro* é fundamental para o estabelecimento de protocolos eficazes à sobrevivência de plantas oriundas de ambientes controlados nas condições naturais. O presente estudo teve por objetivo comparar a estrutura anatômica entre folhas de plântulas germinadas *in vitro* e as aclimatizadas em diferentes substratos. Para o estudo anatômico, cortes paradérmicos foram realizados nas lâminas foliares de plântulas provenientes do cultivo *in vitro* e de plântulas já aclimatizadas nos diferentes substratos: Plantmax<sup>®</sup>, vermiculita, areia e a combinação Plantmax<sup>®</sup>+vermiculita+areia (P.V.A). Observaram-se diferenças anatômicas nas lâminas foliares de plântulas provenientes do ambiente *in vitro* em comparação com as aclimatizadas em diferentes substratos. O mesofilo e as epidermes adaxial e abaxial se apresentaram menores em plantas produzidas *in vitro* e, entre os substratos, as plântulas aclimatizadas com Plantmax<sup>®</sup> apresentaram-se maiores, com maior espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso.

**Palavras-chave:** *Tabebuia roseo-alba*; cultura de tecidos; aclimatização; cortes paradérmicos

## INTRODUÇÃO

Várias espécies do gênero *Tabebuia* (Família Bignoniaceae) são nativas do Brasil e vulgarmente denominadas de ipê (Ferretti et al., 1995). O ipê-branco é uma árvore nativa de ampla ocorrência em todo o território brasileiro. Em função de seu florescimento exuberante e de características arbóreas desejáveis, é de grande importância para o paisagismo, particularmente para a arborização de ruas, avenidas e, inclusive, para o reflorestamento em terrenos secos e pedregosos (Lorenzi, 2000).

Técnicas de cultura de tecidos vegetais têm sido de grande utilidade na resolução de diversos problemas de várias espécies, mas um grande número de plantas pode não sobreviver à transferência das condições *in vitro* para casa de vegetação. A maioria das espécies que crescem *in vitro* requer um processo de aclimatização para sobreviver e crescer quando transferidas para o solo (Preece & Sutter, 1991).

A aclimatização pode ser definida como a transferência da planta da condição *in vitro* para o ambiente natural ou para um ambiente intermediário, como casa de vegetação ou telado (Debergh & Maene, 1981). A principal causa da baixa sobrevivência é a excessiva perda de água pelas plantas durante esse processo (Sutter & Lamghans, 1982).

Para a preparação das mudas, o substrato utilizado é de grande importância na aclimatização, uma vez que pode facilitar ou impedir o crescimento das raízes conforme o espaço de aeração, sua capacidade de retenção de água e suas propriedades físico-químicas (Calvete, 1998). Várias são as misturas utilizadas na composição de substratos para plantas que passaram pelo processo de aclimatização, devendo-se levar em consideração as propriedades químicas e físico-hídricas, pois essas influenciam na relação água/ar do substrato e na disponibilidade e absorção de nutrientes (Fernandes & Corá, 2000).

<sup>1</sup> Doutorando em Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, marcelo\_pado@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Professora associada, DAG/UFLA, patriciapaiva@dag.ufla.br

<sup>3</sup> Professor associado, DBI/UFLA, renpaiva@ufla.br

<sup>4</sup> Pós-doutoranda em Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, dvbio@hotmail.com

<sup>5</sup> Professor associado, DBI/UFLA, emcastro@ufla.br

<sup>6</sup> Pós-doutoranda, EPAMIG, fbraga@yahoo.com.br

Diversos estudos histológicos demonstraram que os órgãos vegetativos de plantas desenvolvidas *in vitro* apresentam tecidos e estruturas pouco diferenciados se comparados com plantas cultivadas em casa-de-vegetação (Apóstolo et al., 2005).

O uso de diferentes substratos com resultados eficientes para a aclimatização de diversas plantas já foi verificado por vários autores (Vichiato et al., 1998; Brasil et al., 1999; Sedyama et al., 2000; Souza, 2001; Mendonça et al., 2003).

O presente trabalho teve como objetivo comparar anatomicamente folhas de plântulas germinadas *in vitro* e aclimatizadas em diferentes substratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para realização dos estudos anatômicos, foram coletadas folhas de plântulas *in vitro* e folhas completamente expandidas do terço superior de plântulas de ipê-branco após 30 dias de aclimatização nos diferentes substratos: Plantmax<sup>®</sup>, vermiculita, areia e a combinação Plantmax<sup>®</sup>+vermiculita+areia (1:1:1) (P.V.A.), fixadas em FAA 70% (Formaldeído - ácido acético glacial - álcool etílico 70%) por 72 horas e, posteriormente, conservadas em álcool etílico 70% (Johansen, 1940). O estudo anatômico das folhas baseou-se no exame microscópico de seções transversais, obtidos com micrótomo manual.

As seções transversais foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50%, lavadas em água destilada, coradas com azul de astra e safranina e montadas em glicerina 50%, segundo a metodologia descrita por Kraus & Arduin (1997). As determinações da espessura dos tecidos foram realizadas com ocular micrométrica acoplada em microscópio de luz. Foram quantificadas as espessuras dos parênquimas paliçádicos e esponjosos das epidermes adaxial e abaxial das folhas de ipê-branco.

As medições de espessura foram analisadas utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições por tratamento. Cada repetição foi composta por três medidas para espessura. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste de Scott-Knott, considerando significância de 5% no programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando as seções transversais, tanto as folhas cultivadas *in vitro* como as aclimatizadas apresentaram organização dorsiventral, conforme se visualiza na Figura 1. De acordo com (Metcalf & Chalk, 1950), todas as espécies de Bignoniaceae são dorsiventrals, sendo registrada estrutura isobilateral apenas no gênero *Kigelia*.

As seções transversais demonstraram que em todas as condições de cultivo, ambas as epidermes se mostraram compostas por apenas uma camada de células, caracterizando-as como epiderme uniestratificada (Figura 1).

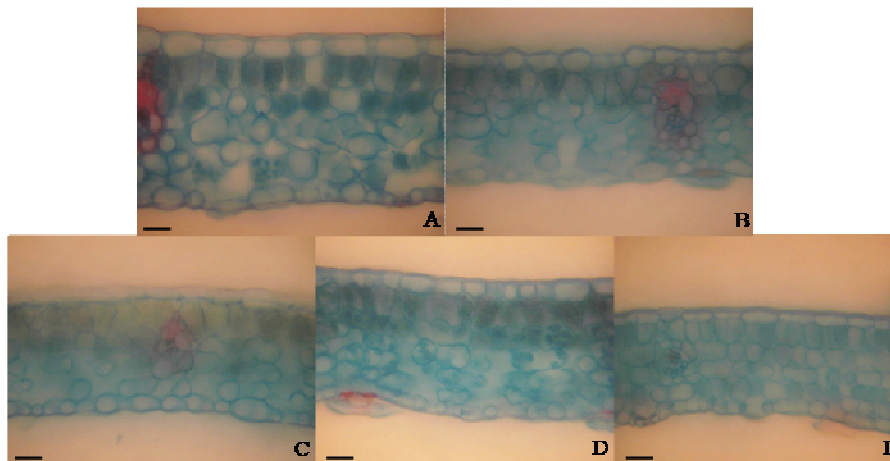


Figura 1 Fotomicrografia de seções transversais de folhas de ipê-branco aclimatizadas em Plantmax<sup>®</sup> (A) P.V.A. (B), vermiculita (C), areia (D) e cultivadas *in vitro* (E). Barra= 10 µm.

O parênquima esponjoso das plântulas cultivadas *in vitro* apresentou de 2 a 3 camadas de células e espaços intercelulares menores que as plantas aclimatizadas nos diferentes substratos, observando-se nessas, de 3 a 4 camadas de células. O parênquima paliçádico foi constituído por uma camada, sendo que as células das plantas aclimatizadas se apresentavam mais alongadas e justapostas do que nas condições *in vitro* (Figura 1).

Segundo Lee et al. (2000), células paliçádicas mais alongadas constituem uma adaptação das plantas à alta intensidade luminosa. Espera-se que, quanto mais espesso o parênquima paliçádico, maiores sejam também as taxas fotossintéticas (Bolhar-Vordenkampf & Draxler, 1993), processo esse fundamental ao crescimento e desenvolvimento vegetal.

Comparando-se as plântulas cultivadas *in vitro* e as aclimatizadas em diferentes substratos, observou-se diferença estatística para a espessura da epiderme adaxial e abaxial e o mesofilo, com as maiores médias para as plantas aclimatizadas em Plantmax®, com 17,7 µm de epiderme adaxial, 16,8 µm para a abaxial e 110,4 µm para o mesofilo (Figura 2). Menores espessuras foram observadas nas plantas produzidas *in vitro*, com médias de 10,65 µm para a epiderme adaxial, 12 µm para a abaxial e de 70,35 µm para o mesofilo.

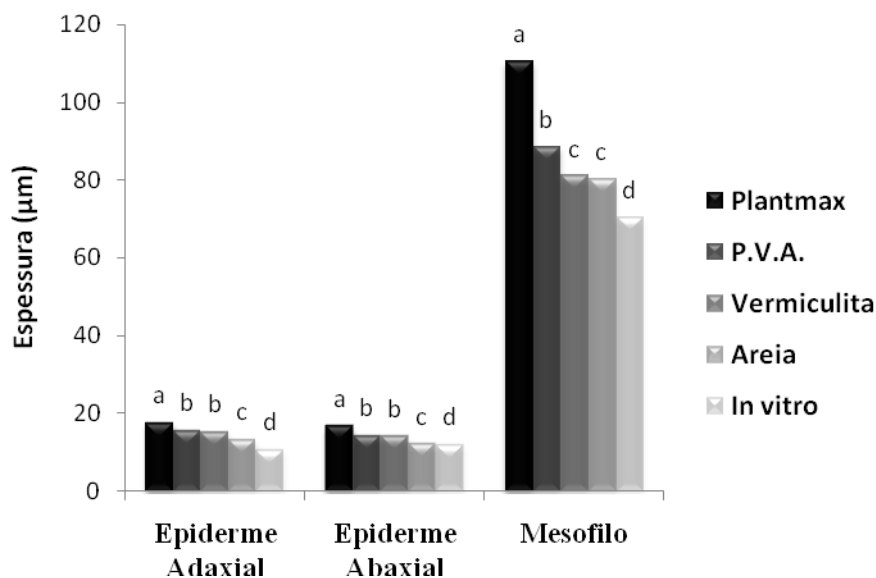


Figura 2 Epiderme das faces adaxial e abaxial e mesofilo de folhas de ipê-branco cultivadas *in vitro* e aclimatizadas em diferentes substratos por 30 dias. \* Médias seguidas de mesma letra, para cada grupo de barras, não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott com 5% de significância.

Também se observou diferença na espessura dos parênquimas paliçádicos e esponjosos. Foram verificadas as maiores médias para plantas aclimatizadas em Plantmax®, com espessuras de 32,85 µm para parênquima paliçádico e 77,55 µm para esponjosos (Figura 3). As plantas produzidas *in vitro* apresentaram a menor média para a espessura do parênquima paliçádico (20,85 µm). Não houve diferença estatística quando comparadas as plantas aclimatizadas em vermiculita e areia e as produzidas *in vitro*, obtendo-se, no entanto, as menores médias para a espessura do parênquima esponjoso.

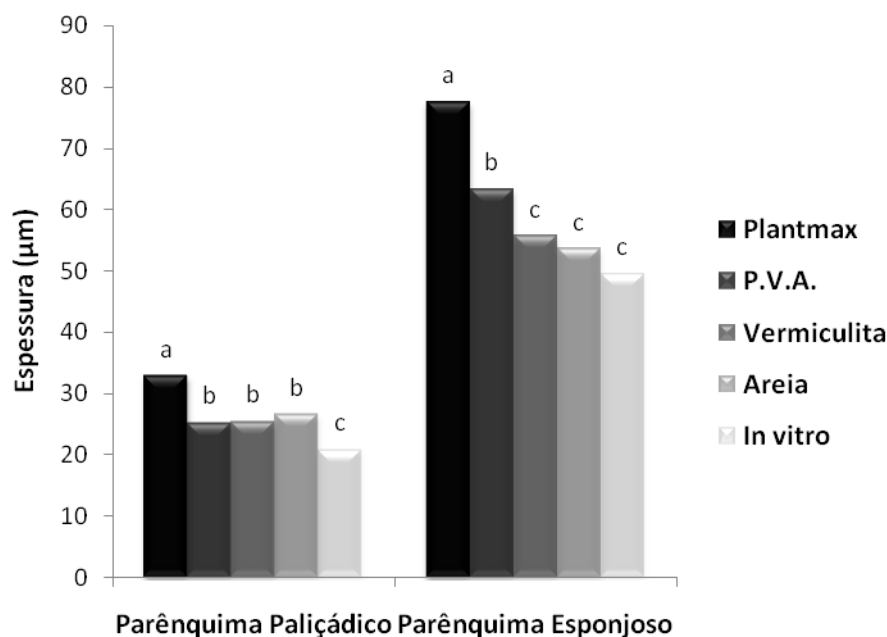


Figura 3 Espessura dos parênquimas paliçádicos e esponjosos de folhas de ipê-branco cultivados *in vitro* e aclimatizados em diferentes substratos por 30 dias. \* Médias seguidas de mesma letra, para cada grupo de barras, não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott com 5% de significância.

## CONCLUSÕES

O mesofilo, a epiderme adaxial e abaxial e os parênquimas paliçádico e esponjoso apresentaram-se mais espessos nas folhas de plântulas de ipê-branco aclimatizadas no substrato Plantmax®.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADE, L. C. **Aspectos do cultivo *in vitro* de ipê-branco**. 2008. 113 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

APÓSTOLO, N. M.; BRUTTI, C. B.; LLORENTE, B. E. Leaf anatomy of *Cynara scolymus* L. in successive micropropagation stages. **In Vitro Cell Developmental Biological - Plant**, Columbia, v. 41, p. 307-313, May/June 2005.

BOLHAR-VORDENKAMPF, H. R.; DRAXLER, G. **Funcional leaf anatomy photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. 404 p.

BRASIL, E. C.; SILVA, A. M. B.; MULLER, C. H.; SILVA, G. R. da. Efeito da adubação nitrogenada e potássica e do calcário no desenvolvimento de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p.52-56, 1999.

CALVETE, E. O. **Concentração de sacarose *in vitro* e seleção de substratos para aclimatização *ex vitro* de morangueiro cv ampinas (*Fragaria ananassa* Duch.)**. 1998. 108 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Passo Fundo.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulture**, Amsterdam, v. 14, n. 4, p. 335-345, Apr.1981.

FERNANDES, C.; CORÁ, J. E. Caracterização físico-hídrica de substratos utilizados na produção de mudas de espécies olerícolas e florestais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 469-471, 2000. Suplemento.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FERRETTI, A. R.; KAGEYAMA, P. Y.; ÁRBOCZ, G. de F.; SANTOS, J. dos; BARROS, M. I. A. de; LORZA, R. F.; OLIVEIRA, C. de. Classificação das espécies arbóreas em grupos ecológicos para revegetação com nativas no Estado de São Paulo. **Florestar Estatístico**, São Paulo, v. 3, n. 7, p. 73-77, mar./jun.1995.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

LEE, D. W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000. v. 1, p. 53.

MENDONÇA, V.; ARAÚJO NETO, S. E. de; RAMOS, J. D.; PIO, R.; GONTIJO, T. C. A. Diferentes substratos e recipientes na formação de mudas de mamoeiro 'Sunrise Solo'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 127-130, abr. 2003.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons (leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses)**. Oxford: Clarendon, 1950. v. 2, p. 1500.

PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 71-93.

SEDIYAMA, M. A. N.; GARCIA, N. C. P.; VIDIGAL, S. M. L.; MATOS, A. T. Nutrientes em compostos orgânicos de resíduos vegetais e dejetos de suínos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n. 1, p.185-189, jan./mar. 2000.

SOUZA, F. X. de. **Materiais para a formação de substratos na produção de mudas e cultivo de plantas envasadas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 21 p. (Documento, 43).

SUTTER, E.; LANGHANS, R. W. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 60, n. 12, p. 2896-2902, Dec. 1982.

VICHIATO, M.; SOUZA, M.; AMARAL, A. M.; MEDEIROS, M. R.; RIBEIRO, W. G. Desenvolvimento e nutrição mineral da tangerineira-cleópatra fertilizada com superfosfato simples e nitrato de amônio em tubetes até a repicagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n.1, p. 30-41, 1998.