

Perda de água de tecidos foliares de *Annona glabra* L. submetidos a diferentes ambientes de cultivo *in vitro*.

Silva, Luciano Coutinho¹; Soares, Ângela Maria²; Moreira, Cleílton Vasconcelos³; Barbosa, João Paulo Rodrigues Alves Delfino⁴; Paiva, Renato⁵.

¹Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: lucoutsilva@yahoo.com.br; ²Professora do Depto. Biologia-UFLA; ³Mestrando em Fisiologia Vegetal; ⁴Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal-UFLA; ⁵Professor Associado do Depto. Biologia-UFLA, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: renpaiva@ufla.br.

INTRODUÇÃO

A *Annona glabra* L. é natural da América do Sul (Le et al., 1998). A espécie possui capacidade de adaptação a diversos ambientes, com habilidade de sobrevivência em extremos de temperatura (Sentellas et al. 1996; Mai, 1995) e habitat inundado (Pérez et al., 1993; Croat, 1978), indicando capacidade de adaptação estrutural e funcional ao ambiente.

Esta espécie produz frutos comestíveis e é também utilizada, segundo Manica et al. (2003), como porta-enxerto para a Atemoleira, Graviroleira e Cherimoleira, algumas das frutas mais consumidas do gênero *Annona*.

Uma das etapas cruciais da cultura de tecidos de plantas é a aclimatização onde, geralmente, ocorre baixo índice de sobrevivência das brotações devido à perda de água dos tecidos, especialmente os foliares. O presente trabalho teve por objetivo, analisar a perda de água de tecidos foliares de *Annona glabra* L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas localizado no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizados como explantes primários para a micropropagação (fase de multiplicação) segmentos nodais contendo apenas uma gema e tamanho aproximado de 1,5 a 2,0 cm, derivados de plantas matrizes mantidas sob condições controladas em sala de crescimento.

Para a desinfestação, os explantes foram mantidos em água corrente por 40 minutos e lavados com detergente. A seguir, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70% (v/v) por um minuto, em associação com a imersão em hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 15 minutos e lavados por três vezes em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, os explantes foram mantidos em solução de ácido ascórbico (200 mg L⁻¹) por 20 minutos. Os segmentos nodais foram inoculados em frascos contendo 30 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 7,0 g L⁻¹ de ágar e suplementado com 20,0 g L⁻¹ de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,0 antes da autoclavagem. Após a inoculação, os frascos foram colocados no escuro por um período de 15 dias. Após esse período, os frascos foram levados aos seus ambientes de cultivo, onde permaneceram por mais 30 dias, totalizando então 45 dias de cultivo *in vitro* antes das análises de perda de água.

Foram utilizados dois sistemas de vedação dos frascos e dois ambientes de cultivo: frascos vedados com tampas plásticas transparentes e selamento com parafilme, que restringem as trocas de gases entre o recipiente e a atmosfera externa caracterizando sistema convencional (Figura1A) e tampas plásticas modificadas, contendo um par de orifícios (10 mm de diâmetro) cobertos por dois filtros de membranas permeáveis a gases (Milliseal, Millipore, Tokyo) (Figura1B) com poros de 0,5 µm, que aumentam a ventilação no recipiente de cultivo. Os frascos com as brotações foram mantidos em dois ambientes: sala de crescimento (Figura1C) sob condições de alta irradiância (300 µmol m⁻² s⁻¹) em temperatura de 25°C ± 1°C e em casa de vegetação (Figura1D), sob iluminação e temperatura natural. Na casa de vegetação, os frascos foram mantidos sobre uma bancada

aberta, a cerca de 1,5 m de altura, e sob tela sombrite que permite uma interceptação de 70% da luz solar incidente.

O ambiente da casa de vegetação foi caracterizado por um piranômetro acoplado a um datalogger (LI – 1400 – LI-COR, Lincoln, Neb.) e por um termohigrógrafo durante uma semana em março e uma semana em maio de 2006. Os valores médios observados das características avaliadas foram: temperatura máxima de 36°C + 1°C, temperatura mínima de 26°C + 2 °C, umidade relativa do ar máxima de 59% + 8% e mínima de 35% + 8%. A radiação global média, na altura do recipiente de cultivo, foi de 520 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

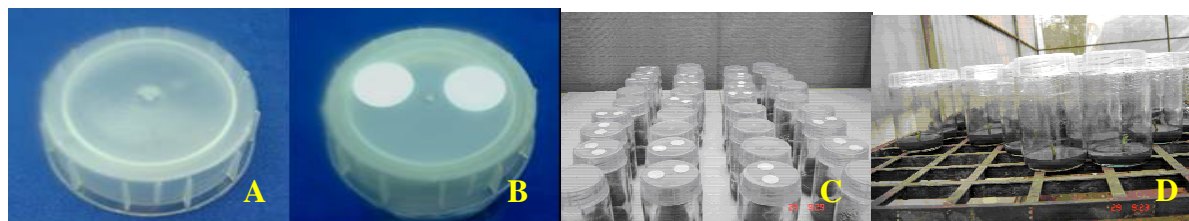


Figura 1. Tampa plástica convencional (A), tampa plástica com Millipore com ventilação natural (B), frascos em sala de crescimento (C) e frascos em casa de vegetação (D).

Para determinar a perda de água dos tecidos, discos foliares de 10 mm² foram pesados em intervalos de 10 minutos, durante um período de 120. Foram utilizados seis discos foliares (folhas expandidas) para cada tratamento. No final do período, os discos foram submetidos à secagem em estufa a 60 °C por 48 horas para obtenção da massa seca. Os valores de perda de água foram expressos como porcentagem do conteúdo total de água do tecido foliar. Para fins de comparação, também foram retirados discos foliares das plantas matrizes conduzidas em sala de crescimento e das plantas cultivadas a pleno sol.

Os experimentos, instalados em delineamento inteiramente casualizado, foram constituídos por seis tratamentos de cultivo *in vitro*, num fatorial de dois (ambientes: sala de crescimento e casa de vegetação) x dois (sistemas de vedação do recipiente de cultivo), sendo que as plantas a pleno sol e as plantas matrizes foram tratamentos adicionais, tidos como testemunhas.

O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias pelo Teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A perda de água dos tecidos foliares após a retirada das brotações dos recipientes de cultivo, ao final da fase de multiplicação, mostra a influência do sistema de vedação e do ambiente de cultivo (Figura 2). Observa-se que a perda de água das brotações cultivadas em recipientes com vedação convencional, independente do ambiente, ocorre de maneira mais acentuada nos primeiros minutos de avaliação, em relação às brotações cultivadas com sistema de ventilação natural, sendo as diferenças progressivamente acentuadas com o aumento no tempo de exposição.

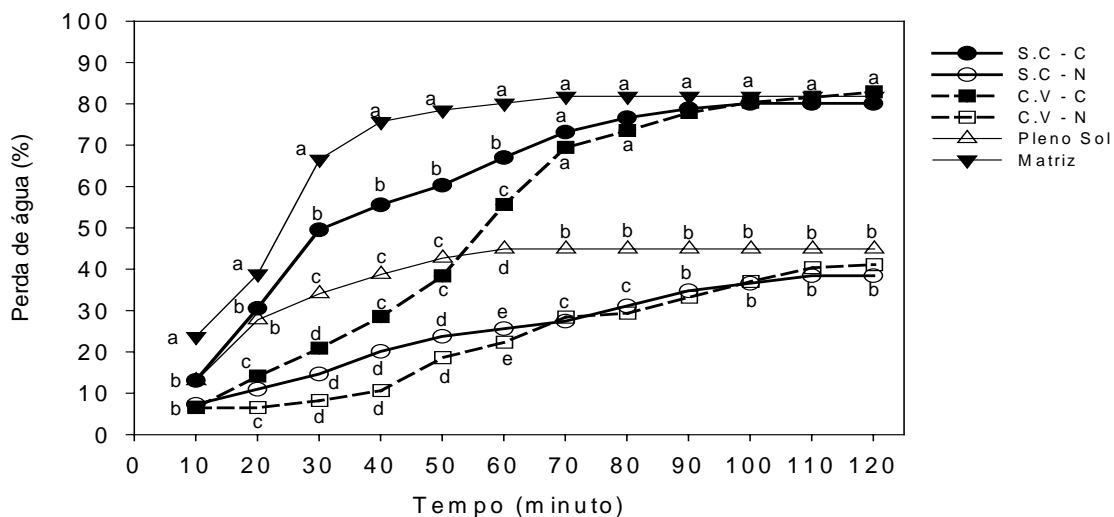


Figura 2. Porcentagem de perda de água durante 120 minutos de exposição à umidade relativa de 50 - 60 % das folhas de *Annona glabra* L. desenvolvidas *in vitro* sob sistema de vedação convencional (C) ou ventilação natural (Millipore) (N) e em sala de crescimento (S.C) e casa de vegetação (C.V) e de plantas *in vivo* em ambiente natural (Pleno Sol) ou sala de crescimento (Matriz). Cada ponto representa a média de quatro repetições. Em cada tempo de determinação, as diferentes letras indicam diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Ao final da avaliação, a perda total de água foliar das brotações cultivadas sob sistema de vedação convencional é de cerca de 80%, valor igual ao observado para as plantas *in vivo* cultivadas na sala de crescimento ($P < 0,05$). Para as brotações cultivadas sob ventilação natural (Millipore) e aquelas cultivadas *in vivo* no ambiente natural (Pleno sol) a perda de água não ultrapassa os 30% ao final do período de determinação, o que representa menos da metade da quantidade de água perdida no mesmo período pelas brotações que se desenvolveram sob sistema de vedação convencional ou as plantas matrizes.

De acordo com os resultados, é possível observar que as brotações cultivadas em casa de vegetação apresentam uma menor velocidade inicial de perda de água, em relação às brotações cultivadas em sala de crescimento, que, independente do sistema de vedação dos recipientes, perdem água mais rapidamente, no início do período de avaliação. Esses resultados podem indicar uma maior resistência à perda de água das brotações cultivadas em casa de vegetação.

Os resultados obtidos permitem afirmar que uso de ventilação natural, durante o cultivo *in vitro* da *Annona glabra*, principalmente aliado a maiores irradiâncias, aumenta a capacidade das brotações para controlar as perdas de água quando são posteriormente expostas a um ambiente com baixa umidade relativa. A influência da utilização de umidades mais baixas do que as convencionais sobre a capacidade da planta controlar a perda de água também tem sido descrita em outras espécies cultivadas *in vitro*, como *Prunus cerasifera* (Sciutti e Morini, 1995) e *Malus domestica* (Brainerd e Fuchigami, 1981).

Segundo Capellades et al. (1990), o aumento na intensidade luminosa e a redução na umidade relativa do ar durante o cultivo *in vitro* induzem as mesmas modificações anatômicas observadas nas plantas durante o período de aclimatização na casa de vegetação, como o aumento na deposição de cera epicuticular e redução no tamanho e na frequência dos estômatos. O aumento na capacidade de controle da perda de água pode ser de extrema importância para prevenir a dessecação das brotações de *Annona glabra* L. durante a aclimatização e garantir a sua sobrevivência após a transferência para o ambiente natural.

CONCLUSÃO

As folhas das brotações, que se desenvolvem sob sala de crescimento e sistema convencional de vedação do frasco, perdem alta quantidade de água quando são retiradas dos recipientes de cultivo. A perda de água diminui nas folhas que se desenvolvem sob ventilação natural (Millipore), principalmente aliado à alta irradiância e em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAINERD, K.E.; FUCHIGAMI, L.H.; KWIATKOWSKI, S.; CLARK, C.S. Leaf anatomy and water stress of aseptically cultured 'Pixy' plum grown under different environments. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.2, p. 173-175, 1981.

CAPELLADES, R.; FONTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosa multiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.115, n. 1, p. 141-145, 1990.

CROAT, T. **Flora of Barro Colorado Island**. Stanford University Press, Stanford, CA, 943p., 1978.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.3 – **Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

LE, H.T.; HANCOCK, J.F.; TRINH, T.T. The fruit crops of Vietnam: introduced species and their native relatives. **Fruit Varieties Journal**. v.52, n.3, p. 158-168, 1998.

MAI, T.T. Fruit trees in Vietnam. **Chronica Horticulturae**, v.35. n.3, p. 8-9, 1995.

MANICA, I.; ICUMA, I.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JUNIOR, M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre, Cinco continentes Editora, 2003. 596p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p. 473-497, 1962.

PÉREZ, N.D.; FONSECA, R.M.; PÉREZ, L.L.; HERNANDEZ, F.L. Vegetacion de las lagunas costeras y zonas inundables del Estado de Guerrero, Mexico. **Brenesia**, v. 39-40, p. 7-28, 1993.

SENTELHAS, P.C.; PÍZA, C.T.J.; SIGRISTI, J.M.M.; KAVATI, R.; PARODI, M.T. Temperatura letal de diferentes plantas frutíferas tropicais. **Bragantia**, Campinas, v.55, n.2, p. 231-235, 1996.

SCIUTTI, R.; MORINI, S. Water loss and photosynthesis of plum plantlets is influenced by relative humidity during rooting in vitro. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.70, n.2, p.221-228, 1995.

PALAVRAS-CHAVES

Annona glabra L., perda de água, tecidos foliares.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG¹ pela concessão de bolsa de Iniciação Científica e ao financiamento de pesquisa.

¹ Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.