

Modificações na anatomia foliar de plantas de bananeira, induzidas durante o processo de micropropagação.¹

Santos, Adriene Matos dos²; Costa, Frederico Henrique da Silva²; Castro, Evaristo Mauro de²; Pasqual, Moacir²; Pereira, Jonny Everson Scherwinski³; Miyata, Luzia Yuriko².

² Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: fredericohenrique@yahoo.com.br; ³ Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC.

INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta de grande expressão econômica e social tanto no Brasil como no mundo, com elevado índice de consumo per capita e produção entre as espécies frutíferas tropicais. No entanto, a maioria das cultivares de bananas e plântanos amplamente cultivadas se caracterizam por serem parcialmente ou completamente estéreis e produzirem reduzida quantidade de mudas por meio de métodos convencionais de propagação, os quais podem ainda ocasionar a disseminação de pragas e doenças economicamente importantes. Diante desse contexto, a técnica de micropropagação representa uma promissora alternativa para a obtenção clonal massal de mudas com certificação genética e fitossanitária.

Segundo Silva et al. (2005), uma das dificuldades de sucesso da propagação vegetativa utilizando a micropropagação é a transferência das plantas de um local com condições controladas para casas de vegetação ou outras áreas. Isso porque as plantas produzidas *in vitro* possuem diferenças anatômica, morfológica e fisiológica daquelas crescidas em casa de vegetação e em campo (Calvete et al., 2002). As folhas das plantas micropropagadas são geralmente finas, tenras e fotossinteticamente pouco ativas; por isto, mal adaptadas às condições que irão encontrar na aclimatização.

Todavia, as plantas possuem plasticidade adaptativa e quando expostas a condições do ambiente *ex vitro* alteram suas estruturas corrigindo as anormalidades que ocorrem *in vitro*, sendo que o aumento na espessura da folha e a ocorrência de células paliádicas mais alongadas e contendo mais de uma camada constitui padrões clássicos de resposta e de adaptação das plantas a alta intensidade de luz (Lee et al., 2000). Desse modo, estudos acerca das alterações anatômicas de plantas micropropagadas pode facilitar a manipulação das mesmas durante a aclimatização e possibilitar a otimização desta fase, garantindo assim elevadas taxas de sobrevivência e melhorias nas mudas obtidas.

Objetivou-se estudar as modificações anatômicas em diferentes folhas de plantas micropropagadas de bananeira.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi constituído de plantas micropropagadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB) (altura média de 5,26 cm), originadas do enraizamento/alongamento *in vitro* de brotações axilares em basal de MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 1 mg.L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L⁻¹ de ágar, com pH 5.8. O cultivo foi realizado em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio, cinco brotações e selados com filme transparente, permanecendo por 24 dias à temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 42 W.m⁻² (fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares, Osram 20 W, luz do dia especial).

Os tratamentos consistiram de seis tipos de folhas: T1) folhas de plantas *in vitro* ao final da fase de enraizamento; T2) folhas persistentes de plantas com um mês de aclimatização; T3) novas folhas formadas *ex vitro* de plantas com um mês de aclimatização (folhas de transição); T4) folhas de transição submetidas a permanência por mais 30 dias de aclimatização; T5) novas folhas de plantas com 60 dias de aclimatização e T6) folhas de

¹ Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

plantas com 120 dias de aclimatização. Para pleno controle das folhas dos tratamentos (T2) e (T4) efetuou-se marcação com fitilho de cores distintas.

Para a aclimatização, as plantas foram inicialmente removidas dos frascos, submetidas à lavagem de suas raízes e transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos pela mistura de terra de subsolo (abaixo de 40 cm):Plantmax[®] HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L⁻¹ de húmus e 20 g.L⁻¹ de super simples. Em seguida, foram mantidas sob condições de casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns), sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente. Já as plantas do último tratamento (T6) foram transferidas para casa de vegetação desprovida de sombreamento, após 60 dias, sendo irrigadas manualmente conforme as necessidades.

As avaliações anatômicas foram conduzidas em seções transversais, das faces *adaxial* e *abaxial* da epiderme, obtidas do terço médio da segunda folha expandida (direção ápice-base), coletadas de diferentes plantas de cada tratamento e previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen, 1940) por 72 horas e conservadas em álcool etílico 70% (v/v). A clarificação dos cortes foi realizada em solução de hipoclorito de sódio (50% v/v), sendo em seguida lavados em água destilada e coradas com azul de astra-safranina. As avaliações foram conduzidas utilizando microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica e objetiva de 40X, por meio de três medições em seis folhas, na região após o quarto feixe lateral, totalizando 18 medições/tratamento.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC). A análise de variância dos dados foi efetuada por meio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott ($P<0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados significativamente superiores para a espessura das epidermes *adaxial* e *abaxial* foram observados em folhas de plantas *in vitro* (T1), folhas persistentes (T2) e novas folhas formadas com 30 dias de aclimatização (folhas de transição) (T3), as quais não diferiram entre si (Tabela 1). No entanto, esse maior espessamento da epiderme se refere apenas ao vacúolo da célula e não a espessura da parede. Quanto ao parênquima paliçádico, maior espessamento ocorreu em folhas de plantas com 120 dias (T6), seguido das plantas com 60 dias (T5) ($P<0,05$). Além disso, nenhuma diferença significativa foi notada entre folhas *in vitro* e persistentes (T1 e T2) e entre folhas de transição (T3) e do tratamento 4 (Tabela 1). Romano & Martins-Loução (2003) afirmam que o incremento da irradiância e a reduzida umidade durante a aclimatização resulta em folhas mais espessas e compactas contendo células paliçádicas mais alongadas e organizadas.

Tabela 1. Alterações na espessura dos tecidos em folhas de plantas micropropagadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Trat.	Feixe Central	Epiderme Adaxial	Hipoderme Adaxial	Parênq. Paliçádico	Parênq. Esponjoso	Hipoderme Abaxial	Epiderme Abaxial	Limbo Foliar
	----- (µm) -----							
T1	417,42 c	12,33 a	52,38 b	28,78 d	64,03 c	50,50 c	12,43 a	220,43 c
T2	500,92 c	12,13 a	54,15 b	27,78 d	68,48 c	44,58 c	14,03 a	221,13 c
T3	463,65 c	14,53 a	70,58 a	41,60 c	60,68 c	59,45 b	13,75 a	260,58 b
T4	477,90 c	10,45 b	72,13 a	37,40 c	66,80 c	51,33 c	10,65 b	248,75 c
T5	633,71 b	10,60 b	70,90 a	51,38 b	84,08 b	68,45 a	11,15 b	296,55 b
T6	981,47 a	8,58 b	84,30 a	86,55 a	153,60 a	36,23 d	8,93 c	378,18 a
C.V. (%)	15,38	18,75	27,64	15,11	13,63	11,64	14,03	12,33

Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade.

Já em relação ao parênquima esponjoso, maior espessura foi verificada em folhas de plantas com 120 dias de aclimatização (T6), seguido daquelas oriundas de plantas com 60 dias (T5) e dos tratamentos 1, 2, 3 e 4 (os quais não diferiram entre si) ($P<0,05$). Comportamento semelhante foi observado para a espessura do feixe central (nervura).

Quanto as hipodermes, resultados significativamente superiores para a hipoderme *adaxial* ocorreram nos tratamentos 3, 4, 5 e 6, que embora não tenham diferido entre si, suplantaram os tratamentos 1 e 2. Por outro lado, a hipoderme *abaxial* apresentou maior e menor espessura nos tratamentos 4 e 6. Já para o limbo foliar, folhas de plantas com 120 dias de aclimatização apresentaram maior espessamento (Tabela 1).

Os resultados aqui observados mostram que algumas características anatômicas verificadas em folhas formadas *in vitro* ainda persistem nas primeiras folhas desenvolvidas *ex vitro* e que somente folhas oriundas de primórdios foliares diferenciados *ex vitro* apresentaram anatomia mais semelhante as plantas adultas, o que esta em concordância com afirmações de outros autores (Gonçalves et al., 2000; Romano & Martins-Loução, 2003; Sandoval et al., 1994). Nesse mesmo sentido, Donnelly & Vidaver (1984) relatam que o grau de transição verificado nas folhas formadas após a transferência *ex vitro* pode depender da quantidade e do estágio de maturidade dos primórdios foliares no momento da transferência das plantas para a aclimatização, bem como também das condições de estresses nas quais as plantas são submetidas.

Sandoval et al. (1994) estudando plantas de bananeira 'Grande Naine' sob diferentes estágios de micropropagação, observaram que folhas formadas em cultura *in vitro* apresentam como principais características anatômicas presença de epiderme e hipoderme com células relativamente largas, porém com paredes finas; mesofilo não diferenciado, com apenas uma camada de células isodiamétricas de parênquima paliçádico próximas ao parênquima esponjoso; cutícula extremamente fina, entre outros. Por outro lado, afirmam que folhas formadas durante a aclimatização possuem epiderme com parede espessa; cutícula fina a espessa (dependendo do período); hipoderme com uma a duas camadas; mesofilo com início de diferenciação e duas a três camadas de células de parênquima paliçádico e esponjoso.

CONCLUSÕES

Todas as alterações anatômicas ocorrem gradualmente com o desenvolvimento de cada nova folha formada após a transferência das plantas para as condições *ex vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALVETE, Eunice O. et al. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 20, n. 4, 2002.
- DONNELLY, D.J.; VIDAVER, W.E. Leaf anatomy of red raspbeery transferred from culture to soil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 109, p. 172-176, 1984.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA; DEX, 2000. Software.
- GONÇALVES, J.C.; DIOGO, G.; COELHO, M.T. Changes in Leaf morphology and anatomy of *in vitro*-cultured Chestnut plantlets during acclimatization. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 520, p. 183-193, 2000.
- JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.
- Lee, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipeterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, v.87, n.4, p.447-455, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A. Water loss and morphological modifications in leaves during acclimatization of Cork Oak micropropagated plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 616, p. 439-442, 2003.
- SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. **Fruits**, Paris, v. 49, n. 1, p. 37-46, Jan./Feb. 1994.

SILVA, L.M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v.19, n.1, 2005.

PALAVRAS-CHAVE

Musa spp.; alterações anatômicas; aclimatização.