

Anatomia de *Dendranthema grandiflora* TZVELEV cv. Rage micropropagada sob diferentes condições de luz e sistemas de vedação.

Braga, Franciane Tavares¹; Pasqual, Moacir²; Castro, Evaristo Mauro de³; Dignart, Samantha Lea⁴.

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Fitotecnia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323, e-mail: ftbraga@yahoo.com.br; ² Professor do Departamento de Agricultura (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323; ³ Professor do Departamento de Biologia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1612; ⁴ Mestre em Agronomia Fisiologia Vegetal (UFLA-MG).

INTRODUÇÃO

Planta cultivada pela beleza de suas inflorescências, o crisântemo tem grande valor comercial por ser uma das culturas ornamentais de maior aceitação no mercado. Hoje, no Brasil, é a segunda maior flor de corte, em volume de produção, sendo superada apenas pelo cultivo de rosas.

Devido a problemas com viroses, a cultura de tecidos tem sido utilizada na propagação do crisântemo, afim de obter propágulos sadias, vigorosas e homogêneas, qualidades cada vez mais exigidas pelo mercado, sendo que o melhor explante para micropropagação é o uso de segmentos nodais (Bhojwani 1990).

Diversas técnicas e metodologias têm sido aplicadas com o objetivo de fornecer condições ambientais que promovam o aumento na capacidade fotossintética do explante micropropagado. O uso de luz natural promovendo o aumento da irradiação sobre o propágulo e principalmente o uso de sistemas de vedação com filtros de membranas com microporos permeáveis a gases, os quais promovem o aumento na troca de gases entre o recipiente de cultivo e o ambiente externo, têm sido utilizados como ambientes alternativos de cultivo *in vitro*.

O desenvolvimento normal de uma planta pode ser afetado, principalmente quanto a aspectos anatômicos, quando estas são cultivadas fora do seu ambiente natural. A avaliação decorrente das condições de cultivo *in vitro* é uma base para a compreensão do processo de adaptação da espécie, assim como fator importante para o estabelecimento de um manejo eficiente para a condução de sistemas de produção comercialmente viáveis.

Fatores como alta umidade relativa no interior do recipiente e baixa irradiação podem provocar alterações significativas estruturais e funcionais nos tecidos, levando à incapacidade, principalmente no controle de perda de água, quando submetidas às condições adversas do ambiente natural.

A desordem estrutural nos propágulos *in vitro* é resultado de complexos e múltiplos fatores no meio de cultura. A consequência é baixa taxa de sobrevivência destes, quando transferidas para condições *ex vitro*.

Diante dessas considerações, o presente estudo teve como objetivo caracterizar anatomicamente folhas de crisântemo cv. Rage, cultivadas *in vitro*, comparando sistemas de vedação dos recipientes e ambiente de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de crisântemo cv. Rage, contendo uma gema foram inoculados em frascos com meio MS acrescido de 15g L⁻¹ de sacarose e 5g L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos. Os frascos foram vedados com tampas convencionais de polipropileno e tampas com sistema de vedação com ventilação natural, e protegidos com filtro antifungo que permite trocas gasosas dentro dos recipientes, provenientes do fabricante Samavidros®. Posteriormente foram colocados diretamente sobre bancadas em casa de vegetação sob sombrite 50% e em frascos mantidos em sala de crescimento convencional, com fotoperíodo de 16 horas,

temperatura de 25^{±2}°C, com irradiância de 52,5 W.m⁻² fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições, sendo que cada frasco continha cinco explantes. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

Após 60 dias, seguindo-se à coleta de dados fitotécnicos, os propágulos selecionados foram fixados em álcool etílico 70% até a realização das análises, para as quais foram coletadas folhas na posição dois, contando-se a partir do ápice.

As secções paradérmicas e a preparação das lâminas foram efetuadas seguindo a técnica descrita por Laboriau et al. (1961), analisando-se as variáveis: densidade estomática (nº de estômatos por mm⁻²) e diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos. As secções transversais e as lâminas foram preparadas seguindo a metodologia descrita por Kraus & Arduin (1997), as variáveis analisadas para as secções transversais foram: espessura das epidermes das faces superior e inferior, e espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso.

As fotomicrografias foram feitas utilizando-se máquina fotográfica acoplada a um microscópio Olympus modelo BX 60, em objetiva de 40x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise da epiderme os estômatos são hipoestomáticos na fase abaxial da folha e do tipo anomocíticos e as células guardas de formato elíptico (Figura 1).

Ocorreu interação significativa entre os fatores luz e sistema de vedação para as variáveis densidade e diâmetro polar, porém, para diâmetro equatorial, não foi observada interação entre os fatores (Tabela 1).

Verificou-se maior densidade estomática na interação casa de vegetação com sistema de vedação ventilada. O aumento no número de estômatos sob maiores níveis de irradiância e ventilação natural demonstra que propágulos cultivados *in vitro* têm tendência semelhante às plantas cultivadas em outros ambientes, que é de aumentar a frequência de estômatos sob maior disponibilidade de luz e CO₂.

Tabela 1. Dados anatômicos da epiderme de propágulos de crisântemo cultivados sob diferentes ambientes de cultivo: sala de crescimento (SC) e casa de vegetação (CV) e sistema de vedação com ventilação natural e convencional.

	Densidade (mm ²)	
	Ventilação	Convencional
CV	163,54aA*	91,74bB
SC	150,96aA	141,34aA
	Diâmetro polar (µm)	
	Ventilação	Convencional
CV	49,45aA	56,81aB
SC	39,15bA	41,54bA
	Diâmetro equatorial (µm)	
	CV	SC
	39,09a**	29,13b
	Ventilação	Convencional
	34,08a	34,14a

* Letras minúsculas correspondem às colunas e letras maiúsculas às linhas.

**Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Maior diâmetro polar foi obtido em propágulos cultivados em casa de vegetação com vedação convencional. Quanto ao diâmetro equatorial, os melhores resultados foram observados em casa de vegetação, não havendo diferença entre os sistemas de vedação

dos frascos. Maior diâmetro polar foi obtido em propágulos cultivados em casa de vegetação com vedação convencional.

De acordo com Khan et al. (2003), a forma elíptica é característica de estômatos funcionais, enquanto a forma arredondada está associada a estômatos que não apresentam um funcionamento normal. A funcionalidade dos estômatos sob diferentes condições de cultivo, condições estas que se aproximem ao ambiente natural podem impedir a excessiva dessecação desses propágulos micropropagados após o transplante, aumentando as taxas de sobrevivência durante o processo de aclimatização.

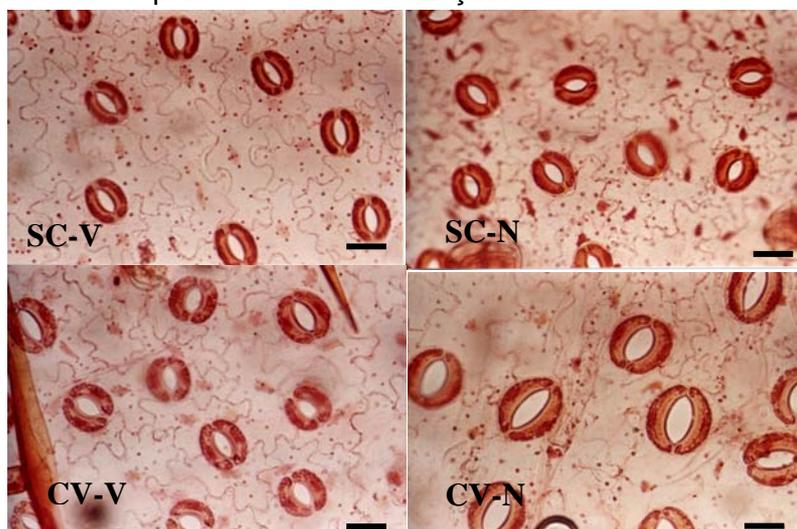


Figura 1. Secções paradérmicas na superfície abaxial de folhas de *D. grandiflora*. SC-V=sala de crescimento com sistema de vedação ventilado; SC-N=sala de crescimento com sistema de vedação convencional; CV-V casa de vegetação com sistema de vedação ventilado; CV-N=casa de vegetação com sistema de vedação convencional.

Analisando-se os ambientes de cultivo separadamente, observaram-se diferenças significativas entre estes. Para as epidermes abaxial e adaxial e para os parênquimas paliçádico e esponjoso, a maior espessura foi observada em casa de vegetação (Tabela 2). Para o sistema de vedação, foram observadas diferenças significativas apenas nas variáveis epiderme abaxial e parênquima esponjoso. Os demais não diferiram entre si, porém, os maiores valores, em todas as variáveis, foram obtidos em sistema de vedação convencional.

Em todas as condições de cultivo, as epidermes apresentaram apenas uma camada de células (epiderme uniestratificada), as células não apresentavam um formato definido, revestidas por uma fina camada de cutícula.

O mesofilo, nas duas condições de cultivo, mostrou-se dorsiventral, apresentando parênquima paliçádico na face superior da lâmina (adaxial) e parênquima esponjoso na face inferior (abaxial). O parênquima paliçádico apresentou apenas uma camada de células, com células de formato indefinido e arranjadas desorganizadamente (Figura 2).

Tabela 2. Espessura dos tecidos epidérmicos, parênquimas paliçádico e esponjoso de crisântemo desenvolvido durante o cultivo *in vitro* sob ambiente de casa de vegetação (CV) e sala de crescimento (SC) e sistemas de vedação.

	Epiderme abaxial (µm)	Epiderme adaxial (µm)	Esponjoso (µm)	Paliçádico (µm)
CV	24,00a	31,95a	110,70a	55,80a
SC	20,40b	27,50b	89,10b	33,50b
Ventilação	19,95b	29,10a	85,85b	44,45a
Convencional	24,45 ^a	30,45a	112,95a	44,85a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Decetti (2004), trabalhando com *Annona glabra* L. sob sistema de vedação ventilada e convencional e vários níveis de irradiância, observou que o aumento da irradiação interfere significativamente no desenvolvimento do tecido foliar. Foi observado neste estudo que as epidermes adaxial e abaxial foram maiores em níveis maiores de irradiância, porém, o sistema de vedação não influenciou no desenvolvimento dessa epiderme. Já nos tecidos que compõem o mesofilo, a espessura dos dois tecidos aumenta à medida que se aumenta os níveis de radiação, independente do sistema de vedação do frasco.

O aumento na espessura da folha e células paliçádicas mais alongadas constituem um padrão clássico de resposta e de adaptação das plantas à alta intensidade de luz (Lee et al., 2000) e evidenciam a plasticidade adaptativa da planta.

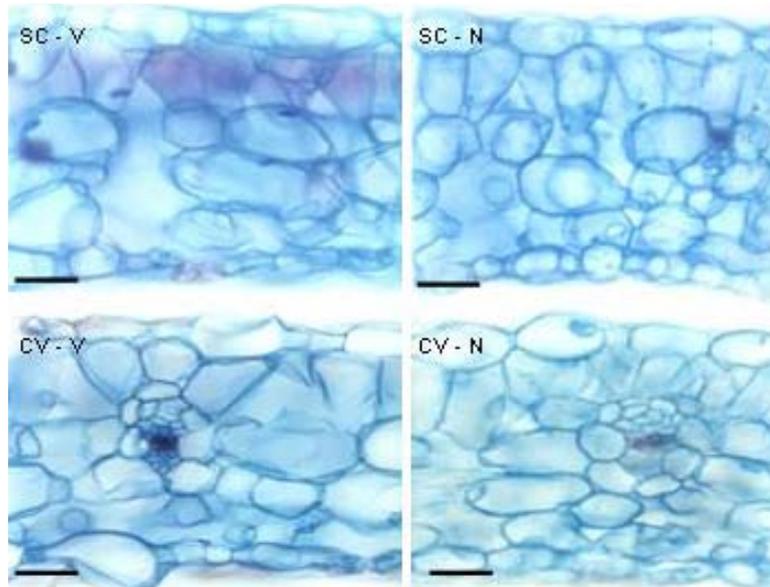


Figura 2. Secções transversais de folhas de *D. grandiflora* desenvolvidas durante o cultivo *in vitro*. Barra = 70 μ m. SC-V=sala de crescimento com sistema de vedação ventilado; SC-N=sala de crescimento com sistema de vedação convencional; CV-V casa de vegetação com sistema de vedação ventilado; CV-N=casa de vegetação com sistema de vedação convencional.

CONCLUSÃO

Concluiu-se com o presente trabalho que o ambiente casa de vegetação com luz natural e sistema de vedação com ventilação natural dos frascos aumentam o número de estômatos.

Os tecidos do mesofilo mostraram-se mais espessos nos ambientes casa de vegetação e sistema de vedação convencional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHOJWANI, S.S. **Plant tissue culture: applications and limitations**. Amsterdam: Elsevier, 1990. 461p.

DECETTI, S.F.C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93p.Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

KHAN, S.V. et al. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and conditions. **Biologia Plantarum**, Copenhagen, v.46, n.2, p.161-166, 2003.

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

LABORIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO-LABORIAU, M.I. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.237-252, 1961.

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.

PALAVRAS-CHAVE

Crisântemo; luz natural; sistema de vedação; micropropagação; anatomia vegetal.