

Características anatômicas de plântulas de orquídeas submetidas a diferentes qualidades de luz.

Pasqual, Moacir¹, Araújo, Aparecida Gomes de¹; Miyata, Luzia Yuriko¹; Castro, Evaristo Mauro de²

* Apoio Financeiro FAPEMIG e CNPq

¹ Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, 37.200-000. email: agaraujo2003@hotmail.com, mpasqual@ufla.br;

² Departamento de Biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, 37.200-000. Lavras-MG.

INTRODUÇÃO

A utilização da luz natural apresenta inúmeras vantagens sobre sistema de iluminação tradicional, no que se refere às alterações morfofisiológicas das plantas.

Embora diversos autores tenham confirmado efeitos morfológicos e fisiológicos da qualidade de luz nas plantas, as respostas variam de acordo com a espécie estudada (Antonopolou et al., 2004; Schuerger et al., 1997). A qualidade da luz pode afetar estruturas anatômicas das folhas, parecendo exercer maiores efeitos durante a expansão foliar, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade de luz (Saebo et al., 1995; Schuerger et al., 1997).

Diante disso, objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar o efeito de qualidades de luz com uso de malhas coloridas nas características anatômicas em folhas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' (Orchidaceae).

MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de orquídea *Cattleya loddigesii* 'Tipo' oriundas de sementes germinadas *in vitro* com, aproximadamente, 1,0 cm de comprimento e com raízes foram inoculadas em frascos contendo o meio de cultura WPM, acrescido de carvão ativado (2 g L⁻¹), sacarose (20 g L⁻¹), ágar (6 g L⁻¹) e pH ajustado para 5,7±0,1 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos.

Os explantes, em número de 5 por frasco, foram inoculados em recipientes com capacidade de 250 cm³, contendo 60 mL de meio. Após a inoculação, os frascos foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico, e, em seguida, transferidos para sala de crescimento ou casa de vegetação, com nível de sombreamento de 50% de transmitância.

Os tratamentos consistiram de diferentes ambientes de cultivo *in vitro*: casa de vegetação (CV) e sala de crescimento (SC) com sombrites azul (CVA e SCA) e vermelho (CVV e SCV).

O material foi colocado diretamente sobre as bancadas em casa de vegetação e sob malhas especiais que, segundo o fabricante, alteram o espectro de luz solar. As malhas coloridas utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries[®]. Utilizou-se a malha ChromatiNet Vermelha 50% e a malha ChromatiNet Azul 50%.

Foram cultivadas também plântulas em frascos mantidos em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas de luz e temperatura de 25±2°C, para servirem como tratamento controle.

A radiação média (MJ.m⁻².dia⁻¹) observada nos microambientes foram: CV=3,15; CVV=2,31; CVA=3,15; SC=3,33; SCV=1,30 e SCA= 1,61. Essas foram mensuradas por meio de sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb).

Após 180 dias de cultivo, cinco plântulas foram retiradas por tratamento aleatoriamente e fixadas em álcool etílico 70%, para análise dos estudos anatômicos. Este trabalho foi realizado no laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Para as seções transversais, foram realizados cortes na região do terço mediano das folhas, utilizando-se o micrótomo de mesa. As seções transversais foram clarificadas em hipoclorito de sódio 1%, durante cinco minutos, sendo enxaguadas em água destilada por dez minutos. Após a lavagem, as seções foram coradas com azul de astra e safranina, seguindo a metodologia descrita por Bukatsch (1972), modificada por Kraus & Arduin (1997). As lâminas foram montadas em glicerina 50%. Para cada tratamento, foram avaliadas cinco folhas de diferentes plântulas e, em cada folha, foram efetuadas cinco avaliações em campos diferentes. Utilizou-se uma ocular micrometrada acoplada a um microscópio de luz. As variáveis analisadas para as seções transversais foram: espessura das epidermes superior e inferior, espessura do mesofilo do feixe central e número de feixes vasculares.

Os cortes paradérmicos foram efetuados manualmente no terço médio foliar, na superfície abaxial das folhas. As lâminas das seções paradérmicas foram montadas com corante safranina em glicerina, com concentração de 0,1% (v/v). Dessas seções, as variáveis analisadas foram: frequência de estômatos, número das células epidérmicas, diâmetros polar e equatorial.

A frequência estomática foi avaliada com auxílio de uma câmara clara, em microscópio Olympus CBB, seguindo a técnica descrita por Laboriau et al. (1961). A frequência estomática e o número de células foram calculados pela contagem do número por mm² de área da folha.

As fotomicrografias foram feitas em microscópio Olympus modelo BX 60, acoplado a uma máquina fotográfica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que as folhas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivadas sob diferentes espectros de luz são do tipo hipoestomáticas, apresentando estômatos do tipo anomocítico. As epidermes são uniestratificadas em ambas as faces da folha e o mesofilo possui parênquima clorofiliano homogêneo.

Maior número de estômatos foi observado em plantas cultivadas em SC e SCV, e em CV e CVV (Tabela 1), enquanto que plântulas cultivadas sob cobertura azul, tanto em CV como em SC, tiveram resultados inferiores. Esses resultados podem ser comparados aos observados por Rajapske & Kelly (1993), que obtiveram menor densidade estomática trabalhando com crisântemo cultivado sob filtros de CuSO₄, que produz os mesmos efeitos de filtros de luz azul.

Tabela 1 Número de estômatos (NE), número de células (NC), espessura da epiderme superior (EES) em µm, inferior (EEI) e mesofilo (M), número de feixes (NF), relação diâmetro polar/ diâmetro equatorial (DP/DE) entre estômatos e índice estomático (IE) em folhas de plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', cultivadas em diferentes ambientes de luz com telas coloridas.

Trat	NE	NC	EES	M	EEI	NF	DP/DE	IE
CVV	93,7 a	808,8 a	45,0 a	697 a	18 a	6,0 b	0,98 a	10,4 a
CVA	80,4 b	754,1 b	54,9 a	439 b	18 a	5,2 b	1,02 a	10,2 a
CV	93,1 a	842,9 a	44,1a	629 a	19a	7,0 b	1,01 a	9,92 a
SCV	95,4 a	767,8 b	52,2 a	484 b	19 a	7,0 b	1,10a	10,8 a
SCA	72,5 b	714,3 b	45,0 a	500 b	17,1 a	5,6 b	0,98 a	9,17 a
SC	94,7 a	857,7 a	47,7 a	559 b	19,8 a	13,4 a	1,01 a	9,97 a
CV(%)	13,59	7,48	14,76	16,23	16,42	16,55	7,09	13,79

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Dignart (2006) registrou maiores densidades de estômatos, em *Cattleya walkeriana*, em sala de crescimento sem sombrite e com cobertura vermelha, e em casa de vegetação sem cobertura e menores densidades em plântulas cultivadas sob cobertura azul, tanto em casa de vegetação como em sala de crescimento.

Contudo, sabe-se que a análise da densidade estomática, por si só, não é um parâmetro preciso para afirmar a adaptabilidade anatômica de espécies cultivadas *in vitro* à aclimatização (Rocha, 2005). Um bom indicativo de funcionalidade estomática é o formato das células guarda em conjunto e um bom parâmetro de avaliação é a relação entre diâmetro polar e diâmetro equatorial dos estômatos. Segundo o mesmo autor, quanto maior for a relação diâmetro polar/diâmetro equatorial (DP/DE), mais elipsóide é o formato do estômato, portanto, maior funcionalidade ele deve apresentar.

Maior número de células foi registrado quando as plântulas foram cultivadas em SC, CV e CVV (Tabela 1).

Não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para espessura das epidermes superior e inferior; já a espessura do mesofilo foi maior em CV e CVV; os demais tratamentos tiveram resultados inferiores (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Schuerger et al. (1997), que também não observaram diferenças significativas para espessura das epidermes em pimentão (*Capsicum annum*) e afirmaram que o mesofilo é mais eficiente nas respostas de alterações espectrais.

Os resultados encontrados para a espessura do mesofilo evidenciam a importância da influência da intensidade de luz sobre as características desse tecido foliar, como já relatado por diversos autores (Rocha, 2005; Serret et al., 1997). E diferem de outros obtidos por tratamentos de alterações espectrais, pois, na maioria dos casos, observa-se redução da espessura foliar sob radiação vermelha (Saebo et al., 1995; Schuerger et al., 1997). Quanto maior o espessamento do mesofilo, maior a eficiência da fotossíntese, entretanto, exposição a elevadas densidades de fluxo de fótons fotossintéticos pode levar a danos por fotoinibição e fotoxidação do aparato fotossintético.

O número de feixes vasculares foi maior em plântulas cultivadas em SC sem utilização das malhas coloridas (Tabela 1). Os tratamentos em sala de crescimento com sombrites e os de casa de vegetação, independente da cobertura com sombrites coloridos, tiveram resultados inferiores.

Analisando-se a relação DP/DE (Tabela 1), artifício utilizado para se medir a funcionalidade estomática, verifica-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Diante disso, conclui-se que a condição de luz natural (CV sem proteção) é capaz de proporcionar elevada densidade estomática, com boa funcionalidade dos estômatos, contribuindo para que as plântulas sejam mais facilmente adaptadas à condição heterotrófica. De forma similar, não foram verificadas diferenças significativas dos tratamentos para o índice estomático.

As alterações promovidas pelo ambiente podem tornar a folha mais semelhante àquela encontrada em ambiente natural, podendo evidenciar maior capacidade fotossintética, por meio de maior diferenciação dos tecidos clorofilianos.

CONCLUSÕES

O ambiente de cultivo promove alterações anatômicas em *Cattleya loddigesii* 'Tipo', durante o cultivo *in vitro*.

O cultivo em casa de vegetação (luz natural) com sombreamento de 50% de tramitância promove uma superfície foliar anatomicamente adaptada à fase de aclimatização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONOPOULOU, C.; DIMASSI, K.; THERIOS, I.; CHATZISSAVVIDIS, C The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient concentrations of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 48, n. 4, p. 549-553, 2004.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

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, jun. 1961.

RAJAPSKE, N. C.; KELLY, J. W. Spectral filters influence transpirational water loss in *Chrysanthemum*. **Hortscience**, Alexandria, v. 28, n. 10, p. 999-1001, Oct. 1993.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira ‘prata anã’**: alterações morfoanatômicas. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. **Plan Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SERRET, M. D.; TRILLAS, M. I.; MATAS, J.; ARAUS, J. L. The effect of different closure types, light, and sucrose concentration on carbon isotope composition and growth of *Gardenia jasminoides* plantlets during the micropropagation and subsequent acclimation *ex vitro*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 47, n. 3, p. 217-230, Sept. 1997.

PALAVRAS-CHAVE: *Cattleya*, Qualidade de luz, anatomia foliar, malhas fotoconversoras, micropropagação.