

Avaliações anatômicas em caules de espécies de maracujazeiros utilizados como porta-enxertos na microenxertia

Anatomical evaluate in stem of species of passion fruits used like rootstock at micrografting

Lorena Melo Vieira¹

Leonardo Monteiro Ribeiro²

Wilson Vicente Souza Pereira³

Maria Olívia Mercadante-Simões⁴

Resumo: Introdução: A microenxertia é uma técnica que permite a eliminação de vírus em maracujazeiro e tem sido estudada visando à obtenção de combinações interespecíficas favoráveis entre copa e porta-enxerto. **Objetivo:** O objetivo desse trabalho foi descrever anatomicamente a região mediana do hipocótilo em plântulas de maracujazeiros das espécies *Passiflora alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis* e *P. setacea*, no estágio de desenvolvimento em que são utilizadas como porta-enxertos na microenxertia. **Metodologia:** Plântulas com 5 a 7 cm de altura foram seccionadas transversalmente na região mediana do hipocótilo, sendo executados procedimentos usuais em anatomia vegetal. **Resultados:** As avaliações permitiram constatar que *P. edulis* possui menor quantidade de fibras floemáticas, enquanto que *P. setacea* possui cutícula mais espessa, córtex menos espesso, maior quantidade de fibras floemáticas e maior desenvolvimento secundário. **Conclusão:** A descrição anatômica forneceu subsídios para o entendimento do pegamento da microenxertia interespecífica evidenciando a inadequação do uso de *P. setacea* como porta-enxerto.

Palavras-chave: *Passiflora*. Hipocótilo. Micropropagação.

Abstract: Introduction: Micrografting is a technique that allows virus elimination in passion fruit that has been studied in order to obtain favorable interspecific combinations between scion and rootstock. **Objective:** The aim of this study was to describe anatomically the median area of the hypocotyl in seedlings of passion fruit species *Passiflora alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis* e *P. setacea* with the same level of development as the ones that are used as rootstocks in micrografting. **Method:** Seedlings of 5-7 cm height were transversally sectioned in the median region of the hypocotyl with the usual procedures of plant anatomy being performed. **Results:** The evaluations performed showed that *P. edulis* has fewer phloematic fibers, while *P. setacea* has thicker cuticle, thinner cortex, more phloematic fibers and higher secondary development. **Conclusions:** The anatomical description provided contributions to the understanding of the success of interspecific micrografting, what shows the inadequacy of using of *P. setacea* as rootstock.

Key-words: *Passiflora*. Hypocotyl. Micropropagation.

1 Doutoranda em Fisiologia Vegetal - Universidade Federal de Viçosa - UFV.

2 Doutor em Biologia Vegetal - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG. Professor da Unimontes.

3 Doutorando em Engenharia Florestal - Universidade Federal de Lavras - UFLA.

4 Doutora em Biologia Vegetal - UFMG. Professora da Unimontes.

INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é um dos mais importantes da família Passifloraceae e abriga 600 espécies dentre as quais cerca de 120 são nativas do Brasil.¹ O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá,² e o país que mais consome esses frutos,³ sendo o maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) uma das principais frutíferas cultivadas no país.⁴ O maracujá-doce ou maracujá-açu (*Passiflora alata* Curtis), espécie nativa do Brasil, também possui importância nos mercados de fruta fresca e de sucos,⁵ além de ser cultivada com fins ornamentais.⁶ Ambas as espécies têm uso medicinal e são utilizadas na fabricação de diversos medicamentos.⁷ As espécies *P.cincinnata* e *P.setacea* são nativas do bioma Cerrado e de áreas de transição e têm uso alimentar restrito às populações tradicionais.¹

Os principais problemas relacionados à desestabilidade no cultivo de maracujazeiros têm sido os de ordem fitossanitária, principalmente as doenças de etiologia viral,⁸ que se intensificam pela ineficácia das medidas curativas e pela fácil dispersão por insetos vetores.⁹⁻¹⁰

A microenxertia é uma técnica que consiste no enxerto de ápices caulinares provenientes de plantas matrizes a serem propagadas, em porta-enxertos obtidos a partir de sementes, em condições laboratoriais.¹¹ Através dessa técnica bons resultados têm sido obtidos na eliminação de patógenos sistêmicos em várias espécies.¹² Ribeiro *et al.* (2008)¹³ adaptaram a metodologia visando a eliminação do vírus CABMV em maracujazeiro-azedo e obtiveram 93% de plantas saudáveis a partir da microenxertia de ápices de matrizes contaminadas.

O uso de porta-enxertos de espécies distintas da utilizada como enxerto é comum em várias espécies, especialmente em *Citrus*, sendo empregada principalmente devido à resistência a patógenos apresentada pelos porta-enxertos.^{10,14} As espécies *P. cincinnata* e *P. setacea* possuem resistência a patógenos sistêmicos do maracujazeiro-azedo como o CABMV

e *Fusarium sp.*, o que tem despertado o interesse no sentido de sua utilização como porta-enxertos não só na enxertia convencional, como na microenxertia.¹

Para o sucesso da microenxertia interespecífica é necessário que haja compatibilidade anatômica e fisiológica entre os materiais vegetais. Estudos têm mostrado a viabilidade da microenxertia interespecífica com a utilização de ápices caulinares de *P. edulis* e porta-enxertos de *P. cincinnata*, e ausência de pegamento quando da utilização de porta-enxertos de *P. setacea*.¹⁵ A avaliação histológica pode proporcionar subsídios para a caracterização dos tecidos envolvidos na microenxertia e de sua interação, favorecendo o entendimento do processo como um todo, como tem sido observado em trabalhos com macieira (*Mallus sp.*),¹⁶ Citrus¹⁷ e em cactos do gênero *Opuntia*.¹⁸

O objetivo do presente estudo foi descrever anatomicamente a região mediana do hipocótilo em plântulas de *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis* e *P. setacea* visando contribuir para a ampliação dos conhecimentos botânicos sobre as espécies e fornecer subsídios para maior entendimento dos resultados da microenxertia.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, entre dezembro de 2007 e outubro de 2008. Plântulas de *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis* e *P. setacea* foram obtidas a partir da germinação de sementes, em substrato comercial previamente esterilizado. Quando apresentavam comprimento do hipocótilo entre cinco a sete centímetros, diâmetro do hipocótilo entre 1 e 2 mm, e três ou quatro folhas (o mesmo estágio de desenvolvimento em que são utilizadas na microenxertia) foram realizadas as avaliações anatômicas. O material a fresco foi seccionado com o auxílio de um micrótomo de mesa e submetido à clarificação com hipoclorito de sódio a 5% e em seguida imerso em água. As seções foram coradas com azul de Alcian e Safranina por 10 minutos e montadas lâminas semi-permanentes em gelatina

glicerinada.¹⁹ A documentação fotográfica foi realizada utilizando-se uma câmera digital modelo Cannon A620 acoplada a microscópio óptico Olympus AX70.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as espécies estudadas, a região mediana do hipocótilo, em corte transversal, apresenta seção circular e permite reconhecer quatro regiões características da estrutura primária do caule: epiderme,

córtex, cilindro vascular (evidenciando-se fibras, floema e xilema) e medula (Figura 1). A epiderme uniestratificada apresenta células isodiamétricas, sem espaços intercelulares. Todas as espécies apresentam estômatos, bem como cutícula fina, com exceção de *P. setacea* que apresenta cutícula espessada (Figura 1D). O espessamento cuticular é considerado característica xeromórfica²⁰ e está relacionado à adaptação da espécie ao ambiente de cerrado.

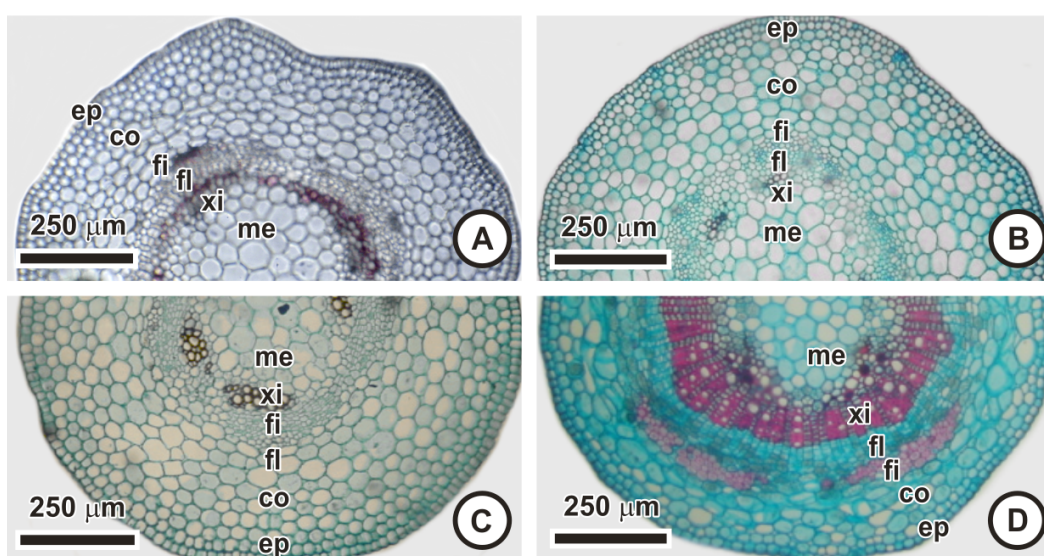


Figura 1: Secções anatômicas na região do hipocótilo em (A) *Passiflora alata*, (B) *P. edulis*, (C) *P. cincinnata* e (D) *P. setacea*. co: córtex; ep: epiderme; fi: fibras; fl: floema; me: medula; xi: xilema.

As espécies possuem parênquima cortical com células isodiamétricas, com parede celular delgada e espaços intercelulares conspícuos. Identifica-se diferença quanto à espessura do córtex, uma vez que em *P. setacea* (Figura 1D) observam-se aproximadamente quatro camadas de células, enquanto que as outras espécies apresentam sete a oito camadas. A espessura do córtex é importante para a execução da microenxertia por ser esta a região onde o ápice caulinar é inserido.^{13,21} Por outro lado, o desenvolvimento de calejamento, a partir de células do parênquima cortical, tem papel fundamental no estabelecimento da junção entre o ápice e o porta-enxerto.^{18,22} Deste modo, a menor espessura

cortical em *P. setacea* pode dificultar a execução da incisão da microenxertia, a deposição do ápice e o desenvolvimento do calejamento e consequentemente a junção entre o ápice e o porta-enxerto, conforme evidenciado por Pereira *et al*¹⁵

Verificou-se a presença de drusas no córtex de todas as espécies. Estas substâncias ergásticas são o tipo de cristal de oxalato de cálcio mais comum em dicotiledôneas²¹ e estão relacionadas a diferentes funções, como defesa mecânica a herbivoria, suporte estrutural, reserva de cálcio e manutenção do equilíbrio iônico.²² Em *P. setacea* encontra-se maior número de drusas no córtex próximo ao feixe vascular, enquanto

que em *P. edulis* e *P. alata* observa-se uma maior concentração na região cortical, próxima à epiderme. Em *P. edulis* foi encontrado monocristal, também composto por oxalato de cálcio.

O sistema vascular das espécies é do tipo eustélico. As calotas de fibras floemáticas são observadas em todas as espécies, tendo *P. edulis* apresentado menor quantidade e *P. setacea* maior número de camadas de fibras (Figura 1). Segundo Evert²⁰, as fibras do floema são células com paredes secundárias espessadas com deposição de lignina, as quais não apresentam protoplasto vivo na maturidade e normalmente contribuem para a rigidez do caule para a proteção dos tecidos adjacentes. A ocorrência de calotas de fibras proeminentes em *P. setacea* indica menor propensão ao desenvolvimento de calejamento, essencial ao desenvolvimento da microenxertia, uma vez que a esclerificação está associada à menor atividade fisiológica dos tecidos.²⁰ Por outro lado, as calotas de fibras podem estabelecer restrição física ao processo de conexão do sistema vascular do porta-enxerto com o ápice microenxertado. Mayer *et al.*²³ em trabalhos realizados com enraizamento de *Vitis* L., observaram que a disposição das fibras no floema secundário e a permanência das fibras do floema primário podem estar relacionadas com a incapacidade de organogênese. Desse modo, em *P. setacea* pode haver limitação à diferenciação celular necessária ao estabelecimento da conexão vascular entre microenxerto e porta-enxerto inviabilizando o sucesso da microenxertia. Em trabalhos de enxertia interespecífica em *Pyrus* sp. foi verificado que a incompatibilidade estava relacionada, principalmente, à ineficiência na translocação de substâncias entre os participantes.²⁴

Não foi observada diferença expressiva em relação à espessura do floema. Todas as espécies apresentaram aproximadamente quatro a seis camadas de células (Figura 1). O xilema em *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. edulis* apresentou três a cinco camadas de células e início de desenvolvimento secundário, enquanto que em *P. setacea* (Figura 1D) evidenciou-se xilema com aproximadamente nove camadas de

células, podendo ser facilmente diferenciado em xilema primário e xilema secundário. O xilema primário, próximo à medula é formado por elementos de vasos de maior calibre que os do xilema secundário que apresenta o maior número de células. Esta condição indica que, apesar das plântulas das quatro espécies apresentarem-se morfológicamente no mesmo estágio de desenvolvimento, anatomicamente, *P. setacea* apresenta-se em fase diferenciada, possivelmente relacionada ao seu crescimento mais lento.

As células presentes na região medular de *P. alata* e *P. cincinnata* e *P. edulis* são grandes e ovóides apresentando espaços intercelulares, enquanto que em *P. setacea* (Figura 1D) a medula apresenta células com menor volume. Observaram-se idioblastos com drusas proeminentes em células medulares de *P. cincinnata*.

CONCLUSÕES

Passiflora edulis possui o menor número de calotas de fibras floemáticas quando comparadas as outras espécies, o que favorece sua utilização como porta-enxerto na microenxertia.

Passiflora setacea possui córtex menos espessado e maior número de calotas de fibras floemáticas, além de maior desenvolvimento secundário que as demais espécies, o que explica os resultados desfavoráveis quando de sua utilização como porta-enxerto na microenxertia interespecífica.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pela concessão de bolsas de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

1. OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C. *Espécies de Maracujá com potencial agrônômico*. In: FALEIRO, F.G. et al. (Org.). Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 141-158.

2. SANTOS FILHO, H.P. et al. *Doenças do maracujazeiro*. In: LIMA, A de A.; CUNHA, M.A.P. da (Org.). Maracujá: Produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa-Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 241-280.
3. LARANJEIRA, F.F. *Problemas e perspectivas da avaliação de doenças como suporte ao melhoramento do maracujazeiro*. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Org.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 160-184.
4. AGUIAR, D.R.D.; SANTOS, C.C.F. *Importância econômica e mercado*. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, C (Org.). Maracujá: Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 9-49.
5. BRAGA, M.F. et al. *Maracujá-doce: melhoramento genético e germoplasma*. In: FALEIRO, F. G. et al (Org.). Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 601-616.
6. SILVA, A.P.; VIEITES, R.L. Alterações nas características físicas do maracujá-doce submetido à imersão em solução de cloreto de cálcio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 20, n.1, 2000.
8. RONCATTO, G. et al. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 26, n. 3, p. 552-554, 2004.
9. HANWEG, K. Virus-free granadilla cultivars. *Neotropica Bulletin*, n. 304, p. 7-8, 1999.
10. CHAVES, R.C. et al. Enxertia de maracujazeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passifloráceas nativas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 26, n. 1, 2004.
11. MURASHIGE, T. et al. A technique of shoot apex grafting an its utilization towards recovering virus-free *Citrus* clones. *Hortscience*, v. 7, p. 118-119, 1972.
12. NAVARRO, L. Application of shoot-tip grafting in vitro to woody espécies. *Acta Horticulturae*, v. 227, p. 43-55, 1988.
13. RIBEIRO, L.M. et al. Microenxertia ex vitro para eliminação do vírus CABMV em maracujá-azedo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 5, p. 589-594, 2008.
14. SIQUEIRA, D.L. de; PEREIRA, W.E. *Propagação*. In: BRUCKNER, C.H.; PECANÇO, M.C. (Org.) Maracujá: Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado, Editora Cinco Continentes, 2001, p.85-137.
15. PEREIRA, W.V.S. et al. Microenxertia interespecífica ex vitro em maracujazeiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, p. 446-453, 2009.
16. RICHARDSON, F.V.M.; SAOIR, S.M; HARVEY, B.M.R. A study of the graft union in in vitro micrografted apple. *Plant Growth Regulation*, v. 20, p. 17-23, 1996.
17. PIO, R. et al. Características anatômicas de porta-enxertos de citrus para microenxertia em diferentes alturas. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 25, p. 848-852, 2001.

18. ESTRADA-LUNA, A.A.; LÓPEZ-PERALTA, C. CÁRDENAS-SORIANO, E. In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia* spp.). *Scientia Horticulturae*, v. 92, p. 317-327, 2002.
19. KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: UFRuRJ, 1997.
20. EVERT, R.F. *Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. 3ed. Hoboken: John Wiley & Sons. 2006.
21. NAVARRO, L.; ROISTACHER, C.N.; MURASHIGE, T. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free Citrus. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 100, p. 471-479, 1975.
22. RIBEIRO, L.M. *Técnicas de cultivo in vitro e microenxertia ex vitro visando a eliminação do Cowpea aphid borne mosaic vírus em maracujazeiro-azedo*. 2006. 85p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Agronomia e Veterinária, UNB, Brasília.
23. APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. *Anatomia Vegetal*. 2ed. Viçosa: UFV, 2006. 438p.
24. DUARTE, M.R.; HAYASHI, S.S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, n. 2, p. 103-109, 2005.
25. MAYER, J.L.S.; BIASI, L.A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. *Acta Botanica Brasilica*, v. 20, n. 3, p. 563-568. 2006.
26. BARBOSA, W. et al. Desenvolvimento de cultivares e espécies de pereira enxertos em plantas de Taiwan Nashi-C na fase de formação de mudas. *Bragantia*, v. 55, n. 2, p. 341-345, 1996.