

# 10<sup>o</sup>

# FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA  
EXTENSÃO • GESTÃO  
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE  
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): SARA MALVEIRA COSTA VIEIRA, MARIA DA CONCEIÇÃO SELVÂNIO DOS ANJOS, ALESSANDRA FLÁVIA SILVEIRA, MARIA OLÍVIA MERCADANTE SIMÕES, LEONARDO MONTEIRO RIBEIRO

## Características anatômicas da raiz de

### *Acrocomia aculeata* em condições *in vitro* e *ex vitro*

#### Introdução

*Acrocomia aculeata*, a macaúba, é uma palmeira com ampla distribuição na América Tropical, apresenta alta produtividade de óleo e tem potencial para a produção de biodiesel. A germinação da macaúba ocorre de maneira lenta e com baixos percentuais, limitando a produção de mudas (RIBEIRO *et al.*, 2012), assim, a cultura de embriões zigóticos apresenta-se como uma ferramenta para a superação de dormência (RAGHAVAN, 2003), incluindo a espécie *Acrocomia aculeata* (RIBEIRO *et al.*, 2013).

A aclimação, que é a transferência das plântulas cultivadas *in vitro* para o ambiente natural é um grande entrave na micropropagação de muitas espécies. A transferência de ambiente protegido e estéril, com nutrientes e umidade, para ambiente desprovido desses fatores, têm levado à perda de plantas, baixa taxa de crescimento e prolongado período de aclimação (SOUZA JUNIOR *et al.*, 2001). O desenvolvimento radicular é particularmente afetado pelo cultivo *in vitro*, pois raízes cultivadas nessas condições apresentam características anatômicas que limitam sua funcionalidade no ambiente natural (GEORGE *et al.*, 2008). Estudos sobre a diferença entre a estrutura da raiz de plântulas de macaúba cultivadas *in vitro* e *ex vitro*, podem contribuir para a ampliação dos conhecimentos sobre aclimação e para subsidiar a geração de tecnologias de propagação da espécie. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características anatômicas da raiz em condições *in vitro* e *ex vitro*.

#### Material e métodos

Frutos de *Acrocomia aculeata* foram coletados em população natural, no município de Mirabela, em Minas Gerais (S16°15'42.36", W 44°09'10.29"). As sementes foram extraídas dos pirênios (endocarpo+ semente), com auxílio de um torno manual de bancada e submetidas à desinfestação por 15 minutos, em solução de hipoclorito de sódio a 6%, seguida de três lavagens com água destilada. Em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar, os embriões foram excisados e dispostos em solução de 100 mgL<sup>-1</sup> de ácido ascórbico, para evitar a oxidação. Após desinfestação, em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 10 minutos e posterior lavagem por três vezes em água destilada e autoclavada, os embriões foram inoculados em tubos de ensaio, com dimensões de 12 x 1 cm, contendo 2 mL do meio MS a 75% da concentração original, acrescido de 30 gL<sup>-1</sup> de sacarose, 0,5 gL<sup>-1</sup> de caseína hidrolisada, 0,1 gL<sup>-1</sup> de mio-inositol, 3 gL<sup>-1</sup> de carvão ativado, 0,5 mgL<sup>-1</sup> de tiamina, 0,5 mgL<sup>-1</sup> de ácido nicotínico, 1 mgL<sup>-1</sup> de piridoxina e 6 gL<sup>-1</sup> de ágar com o pH ajustado para 5,7 (RIBEIRO *et al.*, 2012). Os embriões foram mantidos em germinador ajustado para a temperatura de 30°C, na ausência de luz.

Parte das sementes desinfestadas, como descrito anteriormente, foi mantida em água e a outra parte em solução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 1%, em recipientes plásticos, durante sete dias, com substituição diária da água ou da solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RIBEIRO *et al.*, 2012). Os opérculos foram removidos cuidadosamente das sementes (utilizando-se estilete), evitando danos aos embriões (NEVES *et al.*, 2013). As sementes de ambos os tratamentos foram colocadas para germinar em caixas transparentes de polietileno 15 x 10 x 5 cm (com tampas), contendo vermiculita umedecida a 80% da capacidade de campo e mantidas à temperatura de 30°C, no escuro, em câmara de germinação.

Após a emissão da raiz e bainha foliar, fragmentos obtidos na região mediana da raiz principal (condições *in vitro* e *ex vitro*), com o auxílio de uma lâmina de aço inox, foram fixados em solução Karnovsky, desidratados em série etílica e incluídos em 2-hidroxietil metacrilato. Secções transversais com 5 µm de espessura foram obtidas, utilizando-se micrótomo rotativo, coradas com vermelho de rutênio (0,1%) e azul de toluidina (0,05%, pH 4,7) e montadas em resina acrílica (Itacril, Itaquaquecetuba, Brasil). A documentação fotográfica foi realizada em fotomicroscópio Lab AI / AxionCam ICC 3 (Zeiss, Jena, Alemanha).

#### Resultados

As raízes desenvolvidas *in vitro* apresentam crescimento mais lento e menores espessura e comprimento do que as desenvolvidas *ex vitro*. Ambas apresentam epiderme colapsada e exoderme composta externamente por células pavimentosas e internamente por células mais frouxamente arranjadas e lignificadas, estando às raízes obtidas na condição *ex vitro* com maior grau de lignificação. A região cortical é composta por células parenquimáticas, com volume e espaços intercelulares progressivamente mais volumosos em direção às regiões mais internas do córtex, onde se desenvolvem lacunas de origem esquizolisígena de maior volume no material cultivado *in vitro* (Fig. 1A-1D).



A endoderme apresenta grau elevado de suberização sendo composta por células justapostas e o periciclo é composto por células volumosas de paredes delgadas. As raízes cultivadas *ex vitro* apresentam cilindro vascular com quinze pólos de protoxilema e maior grau de lignificação na medula quando comparadas com as raízes cultivadas *in vitro*, que apresentam nove pólos de protoxilema (Fig. 1E-1F).

## Discussão

O tipo de substrato onde se desenvolvem as plântulas é um dos fatores que pode afetar o seu crescimento. Em plantas cultivadas *in vitro* foi evidenciada uma redução no número de camadas de células, provavelmente devido ao ambiente protegido e com alta umidade relativa (MAYER *et al.*, 2008). O surgimento de alterações anatômicas está ligado à plasticidade celular expressada durante o cultivo nas condições *in vitro*. Essas alterações no padrão radicular são dependentes da relação endógena entre os hormônios auxina e a citocinina (GEORGE *et al.*, 2008).

A formação de aerênquima, sob anaerobiose, pode estar relacionada com o aumento das concentrações de etileno (KONINGS, 1982) ocorrendo pelo colapso e afastamento celular que dará origem à lacuna. Por outro lado, em raízes de carnaúba, observou-se alta porosidade nos tecidos, mesmo em plantas não expostas à inundação indicando ser, a formação do aerênquima, uma característica genética que se expressa mesmo sob aeração abundante (ARRUDA; CALBO, 2004).

O número de pólos de protoxilema em grandes palmeiras pode ser superior a cem e a medula geralmente apresenta células de paredes lignificadas como registrado em espécies de Arecoide, Chamaedoroide e Iriartóide (TOMLINSON, 1961). Em *Cymbidium* 'Joy Polis' (Orchidaceae) notou-se que em raízes cultivadas *in vitro* o cilindro vascular apresentou cinco pólos xilema e no cultivo *ex vitro*, 15 pólos de protoxilema (MAYER *et al.*, 2008) o que corrobora os resultados obtidos em nosso trabalho. Em algumas espécies cultivadas *in vitro* observou-se xilema menos diferenciado e hipertrofia no parênquima cortical (ARRUDA; CALBO, 2004).

## Conclusões

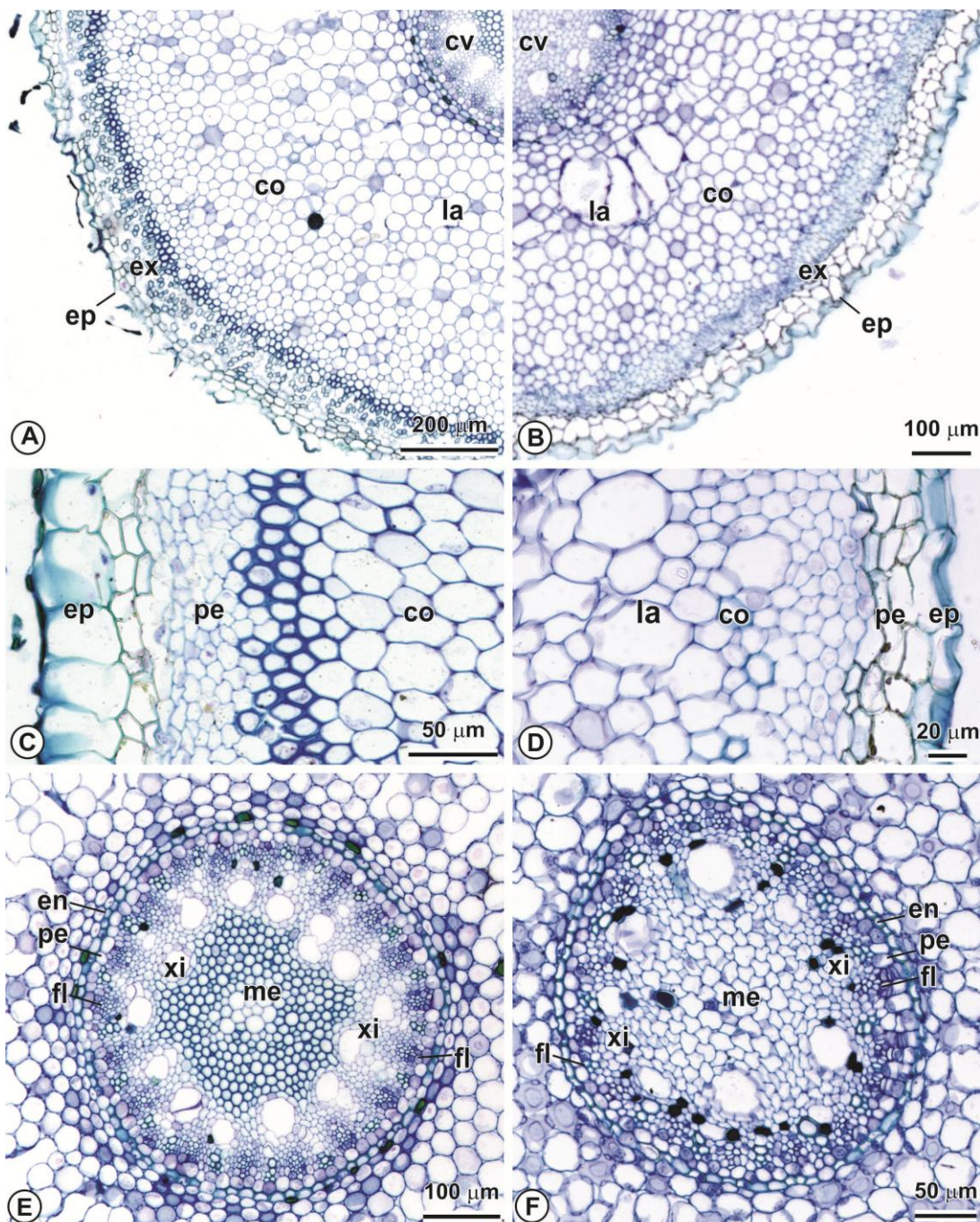
Raízes desenvolvidas *in vitro* apresentam desenvolvimento tardio, menor grau de lignificação e menor número de pólos de protoxilema quando comparadas às raízes desenvolvidas *ex vitro*. Esses resultados visam subsidiar programas de aclimação de mudas de *A. aculeata* propagadas *in vitro*.

## Agradecimentos

À Unimontes e a Fapemig pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica à acadêmica S.M.C.V. e de Bolsa de Incentivo à Produtividade (BIPDT) aos professores L.M.R. e M.O.M.S.

## Referências bibliográficas

- ARRUDA, G.M.T.; CALBO, M.E.R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba [*Copernicia prunifera* (Mill.) HE Moore]. Acta Botanica Brasílica, v. 18, n. 2, p. 219-224, 2004.
- GEORGE, E.F. *et al.* Plant propagation by tissue culture, v.3, p. 465-475, 2008.
- KONINGS, H. Ethylene-promoted formation of aerenchyma in seedling roots of *Zea mays* L. under aerated and non-aerated conditions. Physiologia plantarum, v. 54, n. 2, p. 119-124, 1982.
- MAYER, J.L.S. *et al.* Anatomia comparada das folhas e raízes de *Cymbidium Hort.* (Orchidaceae) cultivadas *ex vitro* e *in vitro*. Acta Botânica Brasílica, v. 22, n. 2, p. 323-332, 2008.
- NEVES, S.C. *et al.* Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Attalea vitrivir*). Flora: Morphology, Distribution and Functional Ecology of Plants, v. 208, n. 1, p.68-78, 2013.
- RAGHAVAN, V. One hundred years of zygotic embryo culture investigations. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, v. 39, n. 5, p.437-442, 2003.
- RIBEIRO, L.M. *et al.* Structural evaluations of zygotic embryos and seedlings of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) during *in vitro* germination. Tress, v. 26, n. 3, p.851-863, 2012.
- RIBEIRO, L.M. *et al.* Interaction between embryo and adjacent tissues determines the dormancy in macaw palm seeds. Seed Science and Technology, v. 41, n. 3, p. 345-356, 2013.
- SOUZA JÚNIOR, E.E. DE. *et al.* Efeito de substratos e recipientes na aclimação de plântulas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merrill cv. Pérola. Pesquisa Agropecuária Tropical, v.31, n.2, p.147-151, 2001.
- TOMLINSON, P.B. II Palmae. In: Anatomy of the monocotyledons. C.R. Metcalf. Oxford University Press, p.308-311, 1961.



**Figura 1.** Anatomia de raízes de *Acrocomia aculeata* desenvolvidas em condição *in vitro* e *ex vitro*. (Fig. 1A, 1C, 1E) Condição *ex vitro*. (Fig. 1B, 1D, 1F) Condição *in vitro*. Seções transversais. (Fig. 1A-1B) Raízes na condição *ex vitro* com maior grau de desenvolvimento do que raízes desenvolvidas na condição *in vitro*. (Fig. 1C-1D) Epiderme colapsada e exoderme composta externamente por células pavimentosas e internamente por células lignificadas, estando às raízes obtidas na condição *ex vitro* com maior grau de lignificação. Região cortical composta por células parenquimáticas com volume e espaços intercelulares progressivamente mais volumosos em direção às regiões mais internas, onde se desenvolvem lacunas de origem esquizolisígena, de maior volume no material cultivado *in vitro*. (Fig. 1E-1F) Endoderme com grau elevado de suberização, composta por células justapostas. Periciclo composto por células volumosas. Cilindro vascular da raiz na condição *ex vitro* com quinze pólos de protoxilema e medula com maior grau de lignificação e raízes na condição *in vitro* com nove pólos de protoxilema. Legendas: co, córtex; cv, cilindro vascular; e, endoderme; ep, epiderme; fl, floema; la, lacunas de aerênquima; me, medula; pc, periciclo; pe, periderme; xi, xilema.