

Sintomas externos (morfológicos) e internos (anatômicos), observados em fôlhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), de plantas cultivadas em solução nutritiva com carência dos macronutrientes. (\*) (\*\*)

W. R. ACCORSI; H. P. HAAG; F. A. F. DE MELLO e  
M. O. C. BRASIL SOBRINHO

Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz»

---

\* Os autores agradecem à Fundação Rockefeller e ao Conselho Nacional de Pesquisas, que forneceram o equipamento e o material que tornaram possível o presente trabalho.

\*\* Recebido para publicação em 3 de março de 1960.

## 1. INTRODUÇÃO

A despeito do valor alimentício do seu fruto, quer “in natura”, quer industrializado, a goiabeira é uma planta muito pouco estudada, no que se refere à necessidade em nutrientes minerais, tanto no Brasil, como em outros países.

Em nosso país, as maiores plantações de que temos notícia, se acham localizadas no Estado de São Paulo, e notadamente nos municípios de Piracicaba e Mogi-Mirim. Entretanto, em tôdas as culturas em que a adubação tem sido praticada, o modo de empregá-la é empírico e com o desconhecimento das necessidades reais da planta para com os diversos nutrientes. Por êsse motivo, em Piracicaba, foram instalados dois ensaios fatoriais  $N \times P \times K \times \text{Calagem}$   $3 \times 3 \times 3 \times 2$ , numa cultura de 40.000 pés, com a finalidade de se estudar a reação da goiabeira às adubações nitrogenada, fosfatada, potássica e calagem.

Diante da necessidade de se avaliarem os sintomas de carência dos macronutrientes, e não se tendo encontrado referências bibliográficas, exceto a de SMITH (1957), na qual o autor descreve somente algumas das deficiências e mesmo assim de um modo sumário, realizamos o presente trabalho. Além dos sintomas de carência dos macronutrientes, estudamos também as alterações citológicas por ela provocados.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Usamos mudas de *Psidium guajava* L. de seis meses de idade. As plantas foram cultivadas em solução nutritiva de HOAGLAND e ARNON (1950). Para os micronutrientes usamos os mesmos sais das soluções acima, em quantidades iguais às recomendadas pelos autores citados, excetuando-se o Fe, que foi substituído por um quelato de Fe, Fe-EDTA. O arejamento foi contínuo, renovando-se as soluções semanalmente.

Após a permanência das plantas durante um mês, aproximadamente, em solução completa, foram as mesmas colocadas nos vasos com dois níveis de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxôfre a saber:

- a) nível *zero*, caracterizado pela omissão de um desses elementos;
- b) nível *normal*, com a solução completa de HOAGLAND e ARNON (1950).

Os tratamentos foram 7 ao todo, com 4 repetições. Uma vez evidenciados os sintomas de deficiência, colhemos as folhas para

descrição dos mesmos e estudo das alterações anatômicas. Os cortes transversais do limbo, com a espessura de 15 a 20 microns, foram feitos nas áreas dos sintomas, com o auxílio do micrótomo de congelação Spencer, empregando-se a conhecida matriz de goma arábica. Na montagem dos cortes utilizamos uma mistura de glicerina e água, em partes iguais. Em seguida, procedemos ao exame microscópico das estruturas.

Conforme dissemos, pareceu-nos interessante fazer acompanhar o exame anatômico das folhas pela descrição dos seus sintomas externos (morfológicos) e internos (citológicos) a fim de tornarmos mais precisos os dados sobre a natureza da carência dos macronutrientes por nós estudados.

Para maior uniformidade na anotação das côres, servimo-nos do "Atlas de los Colores", de VILLALOBOS-DOMINGUEZ e VILLALOBOS (1947). O sistema de classificação de anotação é o seguinte:

- a) a letra ou letras indicam a côr e seu matiz;
- b) o número ou números dão-nos o valor da luminosidade;
- c) o grau expressa a tonalidade do matiz.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. PLANTA TESTEMUNHA

##### 3.1.1. *Aspecto externo*

Mencionaremos resumidamente as características da folha testemunha, isto é, folha de plantas cultivadas em solução completa (nível normal) as quais servirão de base para uma comparação com as folhas que apresentaram sintomas de carência.

As folhas das plantas testemunhas exibem uma coloração verde intensa (LG-7-4.º) na face superior do limbo e um pouco mais clara na face inferior. A nervação na página superior quando observadas por transparência, revela-se colorida de um roxo claro. A coloração é mais acentuada nas nervuras secundárias da página inferior.

##### 3.1.2. *Estrutura anatômica*

Descreveremos o essencial para uma boa comparação das alterações que ocorreram em função das deficiências. Assim, consideraremos apenas a estrutura do limbo e da nervura principal.

- a) Limbo,
- b) Epiderme superior.

A epiderme superior constitui-se de uma camada de células baixas e longas, com membrana externa ligeiramente arqueada, resultando daí o aspecto ondulado da epiderme. As células variam um pouco no tamanho e na forma, conforme o trecho da epiderme.

c) Hipoderme.

A hipoderme compõe-se de duas a três camadas de células (três quando nas vizinhanças da nervura principal e duas nas demais partes do limbo) bem maiores que as da epiderme. As células da primeira camada hipodérmica, em certos trechos, alternam-se e em outros se superpõem às da epiderme; fato idêntico ocorre entre a primeira camada hipodérmica e a segunda. O tamanho e a forma também variam, de acordo com o trecho da seção do limbo e as suas membranas são bem espessas em relação às da epiderme. A hipoderme não apresenta cloroplastos. Seu conteúdo é hialino e possui, freqüentemente, grãos de amido globosos, que foram identificados pelo reativo de Lugol.

d) Mesofilo.

O mesofilo consta de um tecido paliçádico pluriestratificado. As duas primeiras camadas, a partir da hipoderme, são formadas de células retangulares, mais altas que largas, com as características típicas do tecido paliçádico, e repletas de cloroplastos, de um verde vivo. A estas duas camadas seguem-se mais quatro, de células retangulares, algumas com os cantos ligeiramente arredondados, todavia bem unidas entre si, dispostas com certa regularidade. Na camada de células próximas à epiderme inferior, ocorrem alguns meatos. Os cloroplastos mostram-se com o mesmo aspecto das duas primeiras camadas, porém mais numerosos.

No mesofilo notam-se a presença de glândulas secretoras, próximas à epiderme inferior e menos freqüentemente, junto à hipoderme ou no meio do mesofilo. Na 2.<sup>a</sup> camada hipodérmica e no seio do mesofilo, ocorrem células com drusas de oxalato de cálcio, sendo as do mesofilo menores.

e) Nervura principal.

Nervura principal bem saliente e arqueada na face dorsal, e bem pouco pronunciada na face ventral. Reveste-a uma epiderme de células pequenas, com lúmen arredondado e paredes espessas. Em seguida, vem um colênquima redondo, cujas células aumentam de diâmetro a partir da epiderme e daí em direção ao centro da nervura. Ao colênquima segue-se um parênquima, constituído de algumas camadas de células e em continuação deste dispõe-se novo colênquima, porém angular, que contorna o tecido líbero-lenhoso central.

f) Tecidos vasculares.

O floema coloca-se ao redor do xilema como uma faixa contínua. O xilema, por sua vez, é bastante desenvolvido e o conjunto dos tecidos forma, em secção transversal, uma alça cujos extremos quase se tocam próximos à epiderme superior, desta se separando apenas por um tecido colenquimatoso redondo.

### 3.2. DEFICIÊNCIA DE NITROGÊNIO

#### 3.2.1. *Sintomas externos (morfológicos)*

As folhas de plantas deficientes em nitrogênio apresentavam conformação normal e o limbo de coloração citrina (L-9-12°) uniforme, em lugar do verde típico das folhas de plantas testemunhas. A nervação era ligeiramente amarelada, sem manchas. A face inferior das folhas apresentava coloração verde menos intensa que a face superior.

#### 3.2.2. *Sintomas internos (anatômicos)*

Nas células da hipoderme e no tecido colenquimatoso da nervura principal notavam-se a presença de grãos de amido, embora em pequeno número.

Nas duas primeiras camadas do paliádico, a partir da hipoderme, os cloroplastos mantinham sua forma normal e eram de um verde-claro uns, esbranquiçados outros. Com o reativo de Lugol davam intensa reação de amido nas partes descoradas. Nas demais camadas do mesofilo, os cloroplastos revelavam-se irregulares, um pouco menores que os primeiros e um tanto aglutinados. A quantidade de amido nos cloroplastos era maior do que em tôdas as folhas de plantas dos demais tratamentos (fato idêntico foi observado por HAAG (1958) e ACCORSI e HAAG (1959) em folhas de cafeeiro. Os cortes tratados com o reativo de Lugol, quando examinados com pequeno aumento, davam a impressão de um tecido de reserva de amido, especialmente as duas primeiras camadas do mesofilo.

### 3.3. DEFICIÊNCIA DE FÓSFORO

#### 3.3.1. *Sintomas externos (morfológicos)*

A face superior do limbo exibia uma coloração escarlate (S-9-4.°), que progredia do ápice à base e das margens até as vizinhanças da nervura principal, permanecendo verde (L-10-11.°)

apenas a porção adjacente à nervura. No estágio final, toda a superfície do limbo ficava roxa.

Observando-se a folha contra a luz, podíamos verificar que as nervuras secundárias permaneciam claras (transparentes), ao passo que as vênulas extremas, em forma de arcos, mostravam-se ligeiramente arroxeadas. A face inferior da lâmina nada de particular apresentava a não ser o fundo escuro proveniente da coloração escarlate da face superior e isto quando examinada contra a luz. A conformação da folha era normal.

### 3.3.2. *Sintomas internos (anatômicos)*

Examinando-se a epiderme superior ao microscópio, identificamos a presença de antocianina no suco celular, a qual respondia pela coloração do limbo.

A epiderme inferior, examinada em corte transversal do limbo exibia um conteúdo de coloração ligeiramente arroxeadado, em correspondência aos sintomas da face superior.

As células hipodérmicas continham poucos grãos de amido. No mesofilo, os cloroplastos eram ligeiramente amarelados, menores que os da folha testemunha, de forma irregular, freqüentemente reunidos (aglutinados), em número variável, formando pequenas massas. Poucas células apresentavam-se com drusas de oxalato de cálcio.

## 3.4. DEFICIÊNCIA DE POTÁSSIO

### 3.4.1. *Sintomas morfológicos (externos)*

As plantas cultivadas em carência de potássio exibiam nas folhas numerosas manchas marrons avermelhadas (SO-4-7.<sup>o</sup>), pequeninas, aglomeradas, com forma e contorno variáveis. Estas manchas distribuíam-se pelo limbo, a partir dos bordos em direção à nervura principal, mais concentradas na porção mediano superior do limbo, resultando um aspecto pintalgado. Sobre a nervura principal e em muitas secundárias existiam manchas menores. Com o progredir da carência, as manchas iam se fundindo, principalmente na periferia, formando manchas maiores, mais escuras, indicando processo necrótico em andamento. Pequenas áreas do limbo permaneciam verdes (LLY-8-8.<sup>o</sup>).

A face inferior do limbo, em correspondência com as manchas da página superior, mostrava uma coloração marron-avermelhada.

As folhas ostentavam conformação normal.

### 3.4.2. *Sintomas internos (anatômicos)*

Os cortes foram praticados perpendicularmente à nervura secundária, na área dos sintomas.

Do exame das estruturas pudemos registrar numerosas células com drusas de oxalato de cálcio, mal conformadas; algumas drusas apresentavam-se como massas amorfas. Nos tecidos da nervura ocorriam grupos de duas a três células com drusas.

As células da epiderme superior apresentavam-se comprimidas, e as paredes de coloração marron. Fato idêntico ocorria com a epiderme inferior, porém a coloração era mais escura. Os cloroplastos perdiam gradativamente a coloração verde, tornando-se um tanto esbranquiçados. Com o reativo de Lugol davam a reação do amido. Em muitas células das camadas inferiores do mesofilo, os cloroplastos eram bem pequenos, de forma irregular, às vezes aglomerados, originando pequenas massas.

### 3.5. DEFICIÊNCIA DE CÁLCIO

#### 3.5.1. *Sintomas externos (morfológicos)*

As folhas de plantas deficientes em cálcio mostravam os bordos como que crestados, em toda extensão, porém acentuando-se a partir da base (onde o efeito era menor) em direção ao ápice, a ponto de essa região enrolar-se. Nesse mesmo sentido aumentava também a largura da faixa crestada (SO-9-5.<sup>o</sup>), sendo mais pronunciada, isto é, mais larga, na região apical. Dela se originavam faixas marrons, estreitas, que caminhavam para nervura principal, permanecendo aproximadamente equidistantes das nervuras secundárias. Em consequência destes sintomas, o limbo, além de enrolar-se no ápice, apresentava-se bulado e as nervuras principal e secundárias bem escuras.

#### 3.5.2. *Sintomas internos (anatômicos)*

Os cortes foram feitos perpendicularmente à nervura principal, praticados na região dos sintomas de carência. As áreas afetadas mostravam-se coloridas de marron, abrangendo o conteúdo e a membrana das células; nos estágios mais avançados, os cloroplastos, as células, estavam em fase de necrose. Essa coloração invadia também as células epidérmicas e hipodérmicas e frequentemente os elementos dos tecidos condutores da nervura principal e das de diversas ordens, especialmente do xilema.

Na região do mesofilo, adjacente às áreas alteradas, os cloroplastos mostravam-se um tanto amarelados, chegando alguns a

formar massas irregulares precisamente onde as alterações eram mais acentuadas.

Nas células da hipoderme ocorriam numerosos grãos de amido, grandes, maiores que os cloroplastos, e mais abundantes do que nas folhas de plantas testemunhas. Não foram notadas presença de células com drusas de oxalato de cálcio.

### 3.6. DEFICIÊNCIA DE MAGNÉSIO

#### 3.6.1. *Sintomas externos (morfológicos)*

Folhas de plantas cultivadas com omissão de magnésio apresentavam na página superior duas séries de manchas amarelas (Y-13-7.<sup>o</sup>), paralelas à nervura principal uma de cada lado; cada mancha situava-se entre duas nervuras secundárias e era limitada pela nervura principal. As séries começavam na base do limbo e terminavam a pequena distância do ápice. Além dessas manchas, ocorriam, ainda, numerosas outras marrons, de tamanho, forma, contornos variáveis, as quais às vezes se fundiam.

Na página inferior a mesma sintomatologia da superior, porém as manchas citadas eram menos nítidas. A nervura principal era de um verde-claro.

#### 3.6.2. *Sintomas internos (anatômicos)*

As manchas marrons assinaladas em ambas as faces do limbo resultavam da mudança de cor do conteúdo das células epidérmicas que de hialino passava a pardacento. O conteúdo das células da hipoderme também se modificava.

Nas áreas cloróticas, os cloroplastos exibiam alterações na cor, na forma, no tamanho e na posição dentro da célula, atingindo ora a porção inferior do mesofilo, ora a porção superior ou, nos casos mais acentuados, todo o mesofilo. Provavelmente, com o progredir dos sintomas, essas alterações iam também se acentuando, modificando o aspecto inicial da folha.

### 3.7. DEFICIÊNCIA DE ENXÔFRE

#### 3.7.1. *Sintomas externos (morfológicos)*

Deficiência de enxôfre se caracterizava pela ocorrência de manchas cloróticas, que variavam de forma, tamanho, contorno e



número, localizadas principalmente na porção mediano inferior do limbo. Essas manchas eram mais nítidas quando se examinava a folha contra a luz.

Coloração arroxeadada em quase toda a extensão da nervura principal (exceção dos extremos, nesta fase dos sintomas) e nas nervuras secundárias (exceto as da região basal e apical do limbo). As áreas internervais se apresentavam com uma coloração verde citrina uniforme (LLY-11-6.º).

Na face inferior, a lâmina foliar além de ser pouco mais clara que a superior, percebiam-se manchas cloróticas, embora pouco nítidas. Somente as nervuras secundárias revelavam um roxo mais claro que o da face superior. A nervura principal apresentava coloração normal.

### 3.7.2. *Sintomas internos (anatômicos)*

No exame dos cortes feitos na região dos sintomas, poucas células se apresentavam com drusas de oxalato de cálcio. Nas áreas cloróticas, os cloroplastos, além de esmaecidos, quase esbranquiçados, apresentavam-se fusiformes, alongados, com pequenos prolongamentos, aglomerando-se em número variável. Estas alterações eram mais acentuadas nas primeiras camadas do paliçádico, isto é, em contacto com a hipoderme.

## 4. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente experimento cultivaram os autores mudas de goiabeira de seis meses de idade, em soluções nutritivas com 7 tratamentos e 4 repetições.

Constataram e descreveram sintomas de carência em todos os tratamentos (—N, —P, —K, —Ca, —Mg e —S).

### a) *Sintomas externos (morfológicos)*

Nas plantas deficientes em N, Mg e S as folhas apresentaram uma clorose que foi uniforme para o N, internerval para o Mg (áreas cloróticas situadas entre duas nervuras secundárias e limitadas pela principal e pelos bordos) e para o S manchas cloróticas que variavam de forma, tamanho, contôrno e número, sendo que a nervura principal e secundária apresentavam uma coloração arroxeadada em quase toda a extensão, exceto nos extremos. Plantas deficientes em P apresentavam as folhas com uma colora-

ção arroxeadada, inicialmente nos bordos, e que progredia em direção à nervura principal, à medida que a carência se acentuava. No caso da carência de K, as folhas apresentavam numerosas manchas marron-avermelhadas, pequeninas, aglomeradas, com forma e contorno variáveis, que se distribuíam pelo limbo a partir dos bordos em direção à nervura principal. Na carência de Ca, as folhas apresentavam os bordos como que crestados, em toda a sua extensão, porém acentuando-se a partir da base em direção ao ápice, a ponto de essa região enrolar-se.

b) *Sintomas internos (anatômicos)*

As folhas que apresentaram sintomas de carência foram colhidas, fazendo-se cortes com o micrótomo de congelação e montagem em mistura de glicerina e água, em partes iguais. Em seguida, procedeu-se ao exame microscópico, a fim de examinarem-se as alterações morfológicas e anatômicas ocorridas nas folhas. Nos diversos tratamentos foram observadas variações principalmente nos cloroplastos que mudavam de forma, contorno, tamanho e aspecto. Igualmente notaram-se alterações no citoplasma, quantidade de amido, drusas de oxalato de cálcio e outros componentes.

## 5. SUMMARY

The present work was carried out in order to study:

(1) The symptoms of deficiency of macronutrients (N, P, K, Ca, Mg, S) in guava (*Psidium guajava* L.).

(2) The modifications induced by those treatments in the histological make up of the leaves. Young guava plants were grown in nutrient solution two treatments being used, namely: complete solution (HOAGLAND and ARNON, 1950), deficient solution, in which a given element was omitted.

The main conclusions can be summarized as follows.

a) *Symptoms*

Clear cut symptoms of malnutrition were observed in the treatments: —N, —P, —Ca, —K, —Mg, and —S. The signal —stared respectively for deficient level.

b) *Histological effects*

Usually the characteristics of the chloroplasts were affected: loss of the green and coalescence into irregular bodies.

## 6. LITERATURA CITADA

- ACCORSI, W. R., H. P. HAAG, 1959 — Alterações morfológicas e citológicas do cafeeiro (*Coffea arabica* L., var. *bourbon* (B. Rodr.) Choussy), cultivado em solução nutritiva decorrentes das deficiências e excessos dos macronutrientes. Revista do Café Português, 1959, n.º 23: 5-19.
- HAAG, H. P., 1958 — Efeitos das deficiências e excesso de macronutrientes no crescimento e na composição do cafeeiro (*Coffea arabica* L., var. *bourbon* (B. Rodr.) Choussy) cultivado em solução nutritiva. Tese mimeografada — 108 págs. — Piracicaba.
- HOAGLAND, D. R. e D. I. ARNON, 1950 — The water culture method for growing plants without soil. Calif., Agr. Exp. Sta., Berkeley, Calif., Circ. 347.
- SMITH, K. L., 1957 — Growing and preparing Guavas — Department of Agriculture — Bulletin N.º 74 — U.S.A.

