

Acta bot. bras. 23(1): 85-92. 2009.

## Alterações morfológicas foliares em abacaxizeiros cv. IAC “Gomo-de-mel” micropropagados e aclimatizados em diferentes condições de luminosidade

Katherine Derlene Batagin<sup>1</sup>, Cristina Vieira de Almeida<sup>2</sup>, Francisco André Ossamu Tanaka<sup>1</sup> e Marcílio de Almeida<sup>1,3</sup>

Recebido em 26/11/2007. Aceito em 25/04/2008

**RESUMO** – (Alterações morfológicas foliares em abacaxizeiros cv. IAC “Gomo-de-mel” micropropagados e aclimatizados em diferentes condições de luminosidade). Plantas micropropagadas geralmente apresentam dificuldades de adaptação ao meio *ex vitro*, sendo muitas vezes submetidas a processos de rustificação para minimizar os impactos decorrentes da mudança de ambiente. Uma vez que a folha e seus anexos destacam-se como importantes indicativos das estratégias adaptativas das plantas a ambientes adversos, este trabalho teve por objetivo comparar a anatomia foliar de plantas de abacaxi cv. IAC “Gomo-de-mel” cultivadas *in vitro* com microplantas aclimatizadas em diferentes condições de luminosidade, sob telado com 50% de sombreamento e em pleno sol para verificar a necessidade do processo de rustificação para este cultivar. Avaliações por meio de microscopia de luz e eletrônica de varredura da epiderme foliar, demonstraram aumento na densidade de escamas em ambas as superfícies das folhas, em microplantas dos ambientes *ex vitro*, principalmente em relação às que foram expostas diretamente ao sol. Observou-se ainda, aumento no espessamento da cutícula, na sinuosidade das células epidérmicas, e na distribuição e quantidade de fibras no mesofilo evidenciando a interferência das condições de luminosidade nas características morfológicas das microplantas. Essas alterações não prejudicaram o desenvolvimento das microplantas, indicando que não são necessárias etapas de rustificação para a aclimatização deste cultivar.

**Palavras-chave:** aclimatização, *Ananas comosus*, anexos epidérmicos, microplantas

**ABSTRACT** – (Morphological alterations in leave of micropropagated pineapple plants cv. IAC “Gomo-de-mel” acclimatized in different conditions of luminosity). Microprapagated plants usually show difficulties to adapt to *ex vitro* conditions, and many times are submitted to the rustication process to aim the reduction of all the impacts resulting from the environmental changes. Once the leaf and its annexes are important indicators of adaptability strategies of the plants to adverse environmental conditions, the objective of this work was to compare the leaf anatomy of pineapple cv. IAC “Gomo-de-mel” *in vitro* cultivated plants with microplants acclimatized in different conditions of luminosity, under mesh, with 50 % of shading and directly exposed to sunlight, to verify the needed of rustication process on this cultivar. Evaluations of the leaf epidermis using light and electronic scanning microscopy showed an increase on scale density in both leaves surfaces of the *ex vitro* microplants, mainly related to the ones directly exposed to sunlight. Subsequent observations showed an increase on cuticle thickness, on wavy contours of epidermal cells, and on the distribution and quantity of mesophyll fibers, evidencing the light conditions interference in morphological characteristics of these microplants. These alterations had not harmed microplant development, showing that are not need of rustication stages on the acclimatization process of this cultivar.

**Key words:** acclimatization, *Ananas comosus*, epidermal annexes, microplants

### Introdução

A aplicação da técnica de cultura de tecidos é de extrema importância para o agronegócio bem como para as inovações biotecnológicas. O estabelecimento de um protocolo de microprogagação de espécies vegetais é dependente de uma gama de fatores bióticos e abióticos que afetam direta ou indiretamente a adaptação dos propágulos as condições *ex vitro*, uma vez que as microplantas se desenvolveram em condições

heterotróficas. A transição de estádios fisiológicos das microplantas (heterotróficas para autotróficas) pode ocasionar perdas exorbitantes de indivíduos, inviabilizando o processo de micropropagação. Por essa razão, frequentemente as microplantas são submetidas a etapas de rustificação, que consistem na exposição gradativa dessas as condições externas, onde são controladas a luminosidade e a umidade relativa. As estratégias adaptativas dos propágulos podem acarretar diferenças significativas na morfologia interna e externa,

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento de Ciências Biológicas, Av. Pádua Dias 11, C. Postal 9, 13418-900 Piracicaba, SP, Brasil

<sup>2</sup> *In vitro Palm* Consultoria Ltda, Rua Itajobi 421, 13432-000 Piracicaba, SP, Brasil

<sup>3</sup> Autor para correspondência: malmeida@esalq.usp.br

tanto do sistema aéreo como no sistema radicular, sendo essas adaptações mais expressivas no sistema aéreo, principalmente nas folhas (Ehrendorf 1973; Sutter & Hutzell 1984).

Inúmeras são as espécies cultivadas por micropropagação e dentre elas a microcultura de abacaxi demonstra notável eficiência (Mathews & Rangan 1974; Zepeda & Sagawa 1981; Dewald *et al.* 1988; Guerra *et al.* 1999; Dalvesco *et al.* 2000; Almeida *et al.* 2002; Macedo *et al.* 2003).

O Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) vem desenvolvendo desde 1991, um programa de melhoramento genético de abacaxi, visando à resistência à fusariose e características agrícolas e organolépticas mais desejáveis, resultando na obtenção do cv. IAC “Gomo-de-mel”, que se destaca por apresentar fatores desejáveis ao mercado, como o elevado teor de sólidos solúveis totais, acidez baixa a moderada, consistência tenra, suculência e coloração amarelo ouro atraente, que apresenta gomos destacáveis manualmente, o que justifica sua designação (Usberti Filho *et al.* 1999).

Ao que se refere à anatomia foliar dos abacaxizeiros, são descritas estruturas anatômicas típicas de bromeliáceas, como a presença de tricomas, ceras, estômatos presentes apenas na superfície abaxial, epiderme unisseriada revestida por cutícula, mesofilo constituído de hipoderme, presença de parênquima aquífero, com parênquima clorofiliano homogêneo, feixes vasculares colaterais fechados, cordões de fibras e canais de aeração (Py 1969).

Análises histológicas por meio de microscopia de luz e da densidade estomática do limbo foliar de abacaxi cv. Pérola cultivados *in vitro* e *ex vitro* em casa de vegetação, revelaram alterações ocorridas no processo de aclimatização das microplantas, evidenciando sua plasticidade fenotípica (Barboza *et al.* 2006).

Com base no trabalho dos autores supracitados quanto à plasticidade fenotípica do cv. Pérola, o presente trabalho realizou avaliações semelhantes em folhas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merrill cv. IAC “Gomo-de-mel”. Sendo assim, o objetivo foi fornecer subsídios para a melhor compreensão das formas adaptativas deste cultivar micropropagado, averiguando também a necessidade de processos de rustificação na aclimatização dessa cultura, ao se comparar a anatomia foliar de microplantas mantidas *in vitro* com microplantas aclimatizadas sob diferentes condições de luminosidade (sob telado com 50% de sombreamento e em pleno sol).

## Material e métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de morfogênese e biologia reprodutiva de plantas e na casa

de vegetação pertencente ao Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) com a espécie *Ananas comosus* (L.) Merrill cv. IAC “Gomo-de-mel”, cultivada *in vitro* a partir de gemas axilares inoculadas em meio de cultura Murashige & Skoog (1962) acrescido de BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido naftalenoacético), 0,8 e 2,4 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, e mantidas em sala de crescimento com temperatura e luminosidade controladas (27 ± 2 °C e irradiância de 42 µmol/s/m<sup>2</sup>, respectivamente) sob fotoperíodo de 16 horas.

As microplantas foram transferidas para condições *ex vitro* após oito meses de cultivo *in vitro*. Utilizou-se para o plantio vasos plásticos com 11 cm diâm. e 10 cm alt., contendo terra vegetal. As microplantas foram mantidas em dois ambientes: casa de vegetação, sob telado com 50% de sombreamento e em campo em pleno sol, no período de fevereiro a setembro/2006.

A avaliação dos limbos foliares por meio de microscopia eletrônica de varredura foi realizada no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura (NAP/MEPA - ESALQ/USP). Foram coletadas amostras do terço mediano da sétima folha das microplantas, a partir do ápice, as quais foram cortadas em pedaços com aproximadamente 5 mm, onde parte destas amostras foram mantidas intactas e parte foi lavada, escovada e sobre sua superfície aderida uma fita adesiva, visando a retirada completa das escamas. Ambos os tipos de amostras foram posteriormente fixados em solução de Karnovsky (1965) modificado (glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2), por 24 horas. Decorrido esse período as amostras foram pós fixadas em tetróxido de ósmio (OsO<sub>4</sub>) e desidratadas em série crescente de acetona. A secagem, realizada ao ponto crítico (BALZERS CPD 030) teve como meio de desidratação, o CO<sub>2</sub> e, em seguida, foram metalizadas com ouro (metalizador MED 010 BALZERS), e examinadas em microscópio eletrônico de varredura ZEISS SEM 940.

O número de estômatos e escamas foi determinado pelo método de impressão epidérmica (Segatto *et al.* 2004), utilizando éster de cianoacrilato (LOCTITE®). As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio de luz equipado com ocular quadriculada com área foliar de 0,78 mm<sup>2</sup>. Para tanto, utilizou-se a região mediana das quartas, sextas e oitavas folhas, a partir do ápice, selecionadas como forma de padronização de análises, devido a filotaxia 5/13 característica dos abacaxizeiros.

Para a confecção de lâminas permanentes, foram utilizadas amostras do terço mediano das sétimas folhas dos abacaxizeiros, a partir do ápice. Foram analisadas cinco lâminas histológicas por folha, de cinco plantas

acondicionadas em cada um dos ambientes (*in vitro* e *ex vitro*), totalizando 25 lâminas para cada tratamento. Para tanto, o material vegetal foi fixado em solução de Karnovsky (1965), por um período de três dias, seguido pela desidratação do material em série crescente de etanol, permanecendo em cada uma delas por 10 minutos, e por fim realizou-se a infiltração em resina de hidroxietilmetacrilato (LEICA-HISTORESIN), de acordo com as recomendações do fabricante.

O material vegetal emblocado foi cortado em micrótomo rotativo (E.LEITZ LAR) em secções transversais com 5 µm de espes. As secções foram coradas com azul de toluidina a 0,05% (v/v) em tampão fosfato e ácido cítrico (Sakai 1973) e montados em lâminas histológicas com a resina sintética (ENTELLAN®).

As análises das epidermes em vista frontal foram realizadas no terço mediano das quintas folhas dos abacaxizeiros, a partir do ápice, onde foram confeccionadas lâminas semi-permanentes, utilizando-se a dissociação do mesofilo por solução de Jeffrey (Johansen 1940). As lâminas foram coradas em safranina e montadas com gelatina glicerinada (Kaiser 1880).

As lâminas histológicas foram analisadas e as imagens obtidas em microscópio de luz (ZEISS/JENAMED, 2) acoplado a um sistema de captura de imagens com as respectivas escalas na mesma proporção.

## Resultados e discussão

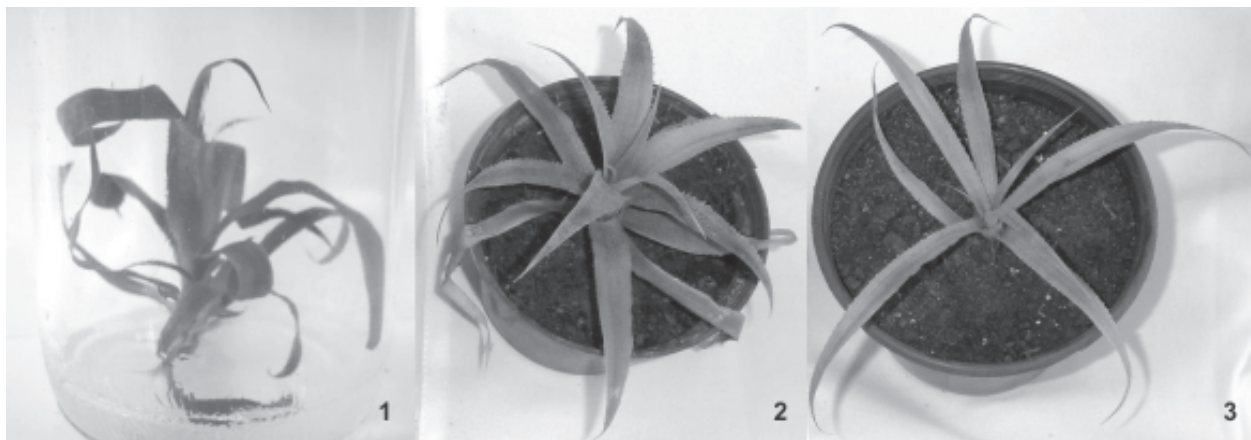
O abacaxi cv. IAC “Gomo-de-mel” quando desenvolvido *in vitro* apresenta plantas com ótimo padrão e qualidade (Fig. 1), resultado também observado em outros cultivares da mesma espécie (Guerra *et al.* 1999; Dalvesco *et al.* 2000; Teixeira *et al.* 2001; Almeida *et al.*

2002; Macedo *et al.* 2003; Moreira *et al.* 2003; Barboza *et al.* 2006).

Quando transferidas para condições *ex vitro*, as microplantas do cv. IAC “Gomo-de-mel” apresentam 100% de sobrevivência, tanto sob telado com 50% de sombreamento (Fig. 2) quanto na condição em pleno sol (Fig. 3), constatando que a mudança de metabolismo heterotrófico para autotrófico não é um fator limitante para a aclimatização deste cultivar. Entretanto, alterações estruturais podem ser verificadas nas plantas *in vitro*, quando transferidas as condições *ex vitro*.

Por meio de microscopia eletrônica de varredura é evidenciada a presença de tricomas glandulares multicelulares e unisseriados (Fig. 4) e tricomas não glandulares escamiformes, achatados e multicelulares (Fig. 5) na superfície epidérmica das plantas cultivadas *in vitro* Barboza *et al.* (2006), apenas descrevem a presença de tricomas glandulares no cv. Pérola micropropagado, e atribuem a esses tricomas, uma forma de adaptação morfológica, que atua na restrição da perda de água pelas folhas, por meio da regulação da temperatura pela reflexão da luz, além de poder secretar substâncias que protegem as folhas contra parasitas e predadores. Nas microplantas do cv. IAC “Gomo-de-mel” acondicionadas *ex vitro* não se verifica a presença de tricomas glandulares devido à elevada concentração de tricomas escamiformes (escamas) em ambas as superfícies foliares, recobrando os estômatos (Fig. 6). Segundo Ehleringer & Mooney (1978) a presença das escamas demonstram uma adaptação morfológica que favorece a manutenção da assimilação de CO<sub>2</sub> e da transpiração, uma vez que diminuem o contato direto da superfície estomática com o ambiente.

De acordo com Tomlison (1969); Fahn (1986); Sousa & Neves (1996) e Larcher (2000), as escamas desempenham funções importantes no limbo foliar como

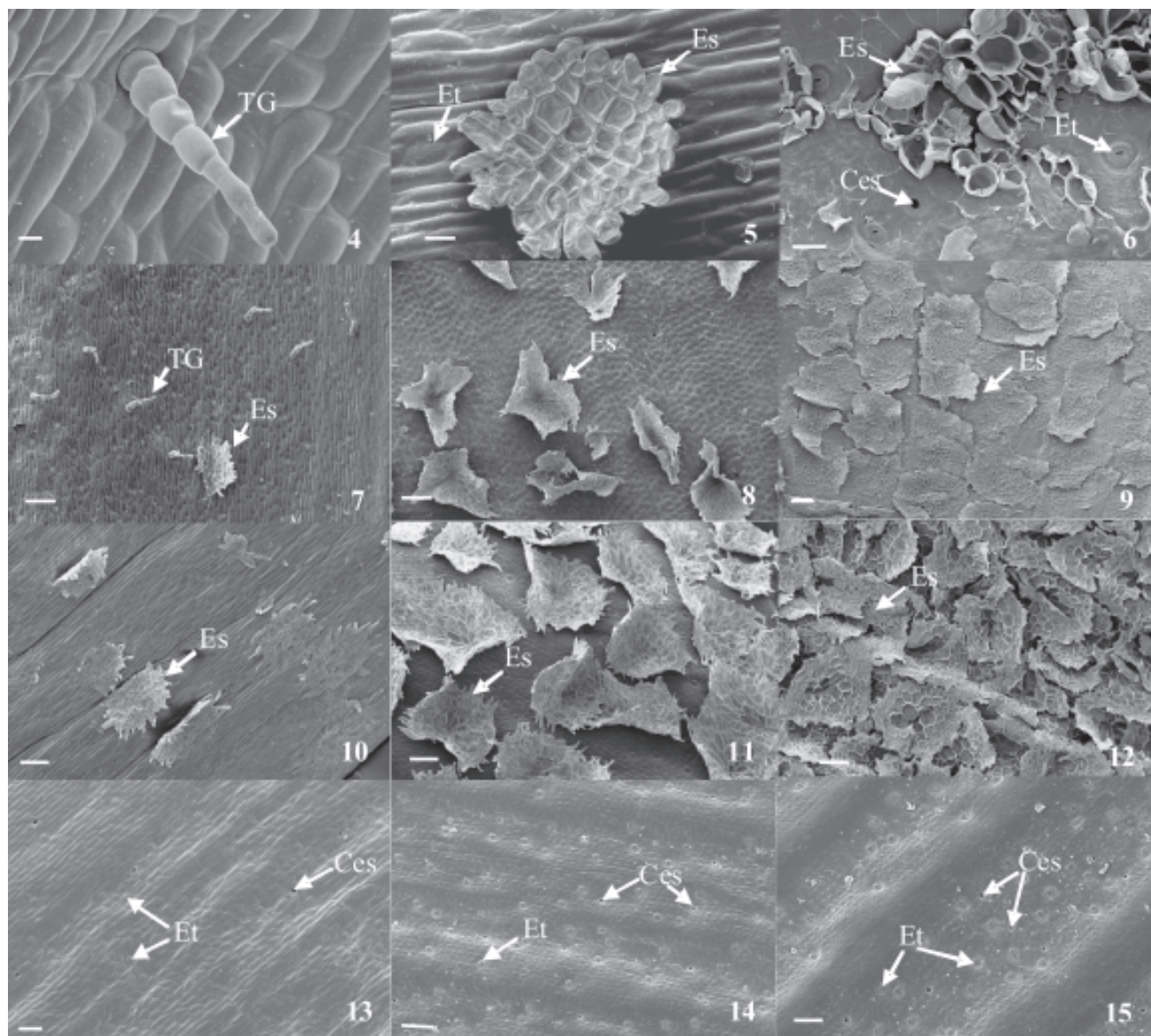


Figuras 1-3. Microplantas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill cv. IAC “Gomo-de-mel”) acondicionadas: *in vitro* (1), sob telado com 50% de sombreamento (2) e em pleno sol (3).

proteção mecânica e proteção contra a perda excessiva de água, mantendo uma atmosfera saturada de vapor em torno da folha, resultando na redução da transpiração. Os tricomas glandulares por sua vez, segundo Dimock & Kennedy (1983) podem sintetizar substâncias especializadas, como alguns metabólitos secundários, em particular os de características voláteis, e em algumas plantas como tomateiros, apresentam não somente a função secretora de exsudatos químicos, mas também

constituem a base mecânica da resistência a diferentes insetos.

Observa-se que as plantas *in vitro* do cv. IAC “Gomo-de-mel” apresentam na região mediana das folhas em média 3 escamas  $\text{mm}^{-2}$  na superfície adaxial (Fig. 7) e 6 escamas  $\text{mm}^{-2}$  na abaxial (Fig. 10). No caso das microplantas mantidas sob telado com 50% de sombreamento, observa-se em média 7 e 11 escamas  $\text{mm}^{-2}$  na superfície adaxial e abaxial, respectivamente (Fig. 8, 11),



Figuras 4-15. Fotomicrografia eletrônica de varredura das epidermes foliares de microplantas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill cv. IAC “Gomo-de-mel”). 4. Tricoma glandular na superfície adaxial de microplanta *in vitro*. 5. Tricoma não glandular (escama) na superfície abaxial da microplanta *in vitro*. 6. Presença de estômatos sob as escamas na superfície abaxial de microplanta acondicionada em pleno sol. 7-9. Superfícies adaxiais de microplantas acondicionadas: *in vitro* (7), sob telado com 50% de sombreamento (8) e em pleno sol (9). 10-12. Superfícies abaxiais intactas de microplantas acondicionadas: *in vitro* (10), sob telado com 50% de sombreamento (11) e em pleno sol (12). 13-15. Superfícies abaxiais com remoção das escamas de microplantas acondicionadas: *in vitro* (13), sob telado com 50% de sombreamento (14) e em pleno sol (15). Ces-cicatriz de escama; Es-escama; Et-estômato; TG-tricoma glandular. Barras = 10  $\mu\text{m}$  (4); 20  $\mu\text{m}$  (5); 30  $\mu\text{m}$  (6); 60  $\mu\text{m}$  (13 e 15) e 100  $\mu\text{m}$  (7-12 e 14).

ao passo que as microplantas mantidas em pleno sol a epiderme adaxial apresenta 12 escamas  $\text{mm}^{-2}$  (Fig. 9), enquanto a abaxial 22 escamas  $\text{mm}^{-2}$  (Fig. 12). Pode-se inferir que, a concentração de escamas difere de acordo com a intensidade luminosa, sendo maior nas microplantas em pleno sol.

Com a remoção das escamas sobre a superfície foliar, observa-se em vista frontal, que as células epidérmicas das microplantas do cv. IAC “Gomo-de-mel” estão organizadas em fileiras paralelas ao longo do eixo da folha (Fig. 13-15), constituída por células longas de forma retangular justapostas, alternando-se às vezes, em células curtas que variam em comprimento e largura. Em corte transversal, apresentam-se unisseriadas e revestidas por cutícula lisa e levemente ondulada. O padrão de espessamento da parede periclinal externa das células epidérmicas difere em relação à condição de luminosidade, sendo que nas microplantas cultivadas *in vitro* apresentam espessamento médio de 7  $\mu\text{m}$  na epiderme adaxial e 2  $\mu\text{m}$  na epiderme abaxial (Fig. 16, 19). No entanto, nas plantas acondicionadas *ex vitro* apresentam um aumento considerável, todavia, tanto as microplantas mantidas sob telado com 50% de sombreamento (Fig. 17, 20) quanto as mantidas em pleno sol (Fig. 18, 21) apresentam aproximadamente 11  $\mu\text{m}$  espes. na parede epidérmica adaxial e 7  $\mu\text{m}$  na abaxial. Esses resultados obedecem ao padrão de espessamento da parede determinado pelo grau de exposição ao sol, semelhantes aos resultados obtidos por Withner *et al.* (1974) em orquídeas.

Os estômatos são raros ou mesmo ausentes na superfície adaxial e abundantes na superfície abaxial das folhas. Tanto as plantas *in vitro* quanto as *ex vitro* cultivadas sob telado com 50% de sombreamento apresentam em média 33 estômatos  $\text{mm}^{-2}$  ao passo que as mantidas em pleno sol apresentam em média 49  $\text{mm}^{-2}$ . Essas densidades são consideradas baixas em comparação aos outros cultivares, como por exemplo, o cv. Pérola que apresenta em média 54 estômatos  $\text{mm}^{-2}$  *in vitro*, 62 estômatos  $\text{mm}^{-2}$  em casa de vegetação (Barboza *et al.* 2006) e 70 a 85 estômatos  $\text{mm}^{-2}$  em condição de campo (Py 1969). Entretanto, mesmo com o baixo número de estômatos apresentado no cv. IAC “Gomo-de-mel” observa-se uma tendência à diminuição da densidade estomática tanto nas plantas *in vitro* quanto nas mantidas sob telado com 50% de sombreamento em comparação às mantidas em pleno sol para esse cultivar. Provavelmente isto se deve, no caso das plantas *in vitro* à sua condição heterotrófica bem como a condição de umidade e luz controlada às quais estão submetidas. Além disso, considera-se que a variação na densidade estomática presente entre as microplantas acondicionadas *ex vitro* está diretamente relacionada à intensidade luminosa.

Nas folhas de plantas *in vitro* do cv. IAC “Gomo-de-mel” observa-se que tanto as escamas quanto os estômatos encontram-se dispersos sobre a superfície foliar, e essa superfície apresenta-se plana (Fig. 13). À medida que a microplanta é transferida da condição *in vitro*, para as condições *ex vitro* sob telado com 50% de sombreamento e em pleno sol, a superfície foliar torna-se gradativamente mais sinuosa (Fig. 14-15). Os estômatos e escamas encontram-se em maior concentração nos sulcos longitudinais decorrentes da sinuosidade da superfície foliar, tanto nas microplantas mantidas sob telado com 50% de sombreamento quanto nas expostas em pleno sol (Fig. 14-15). Essa característica é muito comum em plantas submetidas a ambientes secos como observado por Metcalfe (1960) e Lyschede (1982).

Os estômatos em todas as microplantas avaliadas ocorrem nos mesmos níveis das demais células epidérmicas ou em posição ligeiramente elevada, não ocorrendo em cavidades ou criptas, seguem o padrão tetracítico (Fig. 22), com células guardas riniformes e câmaras subestomáticas típicas, bem definidas (Fig. 23), característica comum a muitas espécies da família Bromeliaceae descritas por diversos autores (Aoyama & Sajo 2003; Scatena & Segecin 2005; Souza *et al.* 2005; Barboza *et al.* 2006).

Todas as microplantas avaliadas apresentam uma hipoderme (Fig. 24) junto a epiderme da face adaxial, característica de muitos representantes da família Bromeliaceae. Este tecido, segundo Madison (1977), armazena água exercendo importante papel na economia de calor, especialmente em plantas com metabolismo CAM, evitando o colapso das células pelo murchamento.

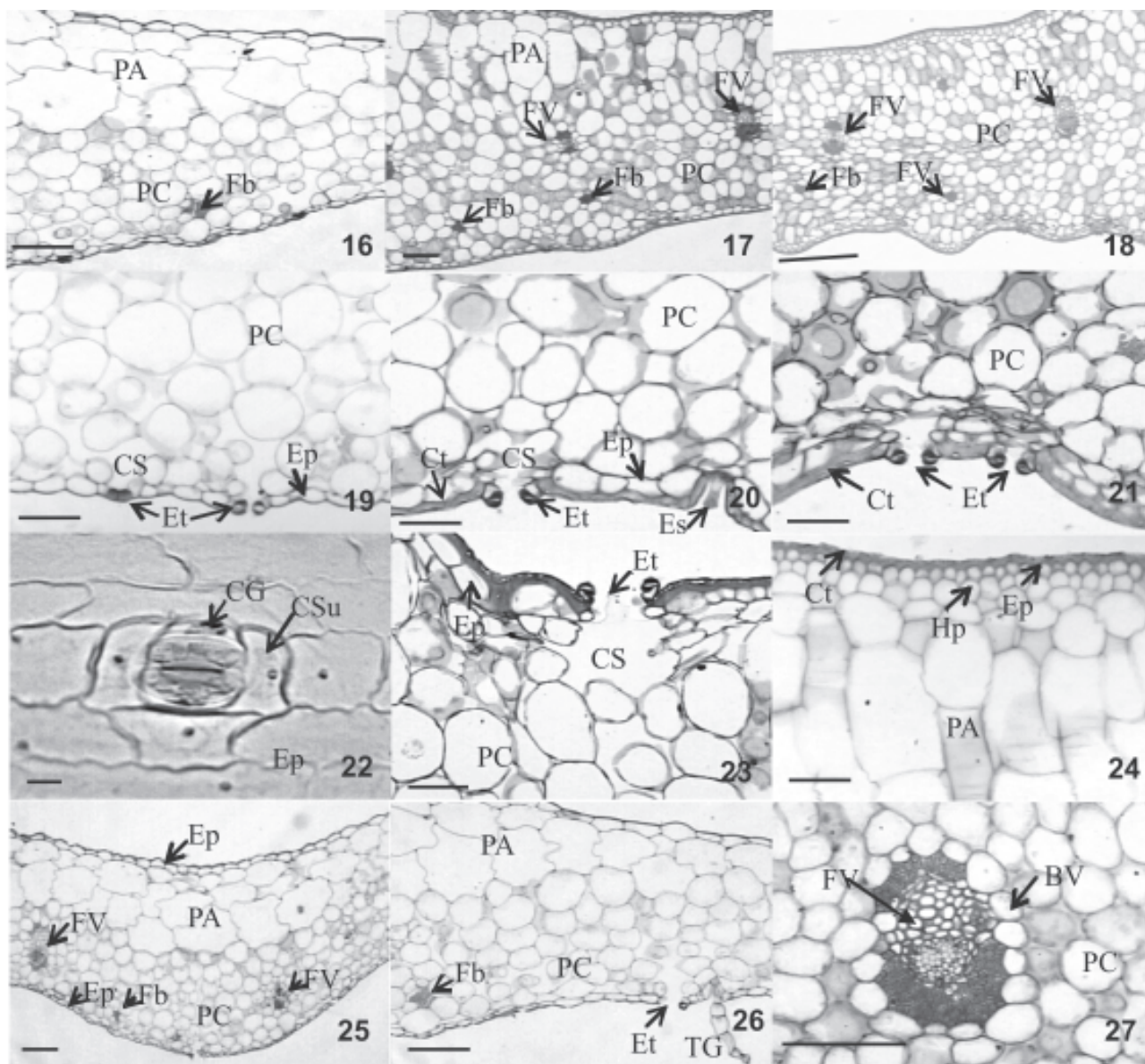
Adjacente à hipoderme, observa-se em todas as folhas das microplantas do cv. IAC “Gomo-de-mel”, a ocorrência do parênquima aquífero, o qual varia de duas a quatro camadas celulares nas diferentes condições ambientais (Fig. 24-26). Segundo Loesch *et al.* (1993), esta característica é importante em plantas com metabolismo CAM, contribuindo para a adaptação desta em ambientes sujeitos a desidratação. Esses resultados corroboram as afirmações de Barboza *et al.* (2006) no cv. Pérola, onde os autores salientam que tanto a hipoderme quanto o parênquima aquífero podem não exercer funções bem definidas em plantas *in vitro*, devido à condição heterotrófica e controlada a qual está submetida, encontrando-se em um ambiente onde há disponibilidade de luz, água e nutrientes. Entretanto, os autores afirmam que esses tecidos podem assumir grande importância no momento da aclimatização, impedindo a desidratação das microplantas nos primeiros dias após o plantio, podendo assim a presença destes tecidos (hipoderme e parênquima aquífero), em plantas *in vitro* estarem correlacionados ao alto índice de sobrevivência

dos abacaxizeiros quando transferidos para as condições *ex vitro*.

No cv. IAC “Gomo-de-mel” observa-se diferenças marcantes entre o parênquima aquífero e o parênquima clorofiliano, sendo que na região central do limbo foliar o parênquima aquífero ocupa até 50% do mesofilo (Fig. 25), caracterizando a simetria dorsiventral em todas as folhas analisadas, fato este não verificado em

direção às margens, onde ocorre a predominância do parênquima clorofiliano, o qual ocupa 100% do mesofilo (Fig. 18).

Em todas as microplantas as nervuras das folhas apresentam feixes vasculares colaterais fechados com pequeno, médio e grande portes, localizados próximos à superfície abaxial, juntamente ao parênquima clorofiliano (Fig. 17-18, 25, 27).



Figuras 16-27. Seções histológicas de folhas de microplantas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill cv. IAC “Gomo-de-Mel”). 16-18. Corte transversal da região do bordo foliar ressaltando as epidermes adaxial e abaxial das microplantas acondicionadas: *in vitro* (16), sob telado com 50% de sombreamento (17) e em pleno sol (18). 19-21. Seção transversal evidenciando as superfícies abaxiais das microplantas acondicionadas: *in vitro* (19), sob telado com 50% de sombreamento (20) e em pleno sol (21). 22-23. Estômato tetracítico: secção paradérmico (22) e secção transversal (23). 24-26. Seções transversais evidenciando: a região da superfície adaxial (24); região central do limbo foliar (25) e região do bordo foliar (26). 27. Detalhe feixe vascular colateral. BV - Bainha vascular; Ct - Cutícula; CG - Célula-guarda; CS - Câmara substomática; CSu - célula subsidiária; Ep - Epiderme; Es-escama; Et - Estômato; Fb - Fibras; FV - Feixe vascular; Hp - Hipoderme; PC - Parênquima clorofiliano; PA - Parênquima aquífero; TG - Tricoma glandular. Barras =10 µm (22); 50 µm (19-21 e 23) e 100 µm (16-18 e 24-27).

Grupos de fibras de esclerênquima típicos de abacaxi e outras espécies da família Bromeliaceae, são observados associados aos feixes vasculares e dispersos por todo mesofilo, (Cutter 1986; Krauss 1948). A concentração de fibras aparentemente é menor em plantas *in vitro* quando comparadas com as mantidas *ex vitro*, mostrando-se mais concentradas nas microplantas mantidas em pleno sol. Este resultado permite inferir que dependendo do grau de aclimatização, a presença de fibras no mesofilo pode estar associada à exposição das plantas a diferentes intensidades luminosas que poderá conferir a essas plantas, suporte mecânico ou mesmo proteção dos tecidos vasculares ao ataque de insetos (Pyykkö 1966; Mauseth 1988).

Outra estrutura observada, característica de plantas com metabolismo CAM, são as células parenquimáticas da bainha do feixe vascular (Fig. 27), responsáveis pela assimilação fotossintética do carbono (Dengler *et al.* 1985), as quais circundam parcialmente o feixe, sendo interrompidas por células esclerenquimáticas (fibras) próximas ao floema.

Todas as estruturas e alterações supracitadas são comuns também ao cv. Pérola, entretanto em todas as plantas do cv. IAC “Gomo-de-mel”, nas três condições ambientais estudadas, não foi observada a ocorrência de cavidades aeríferas, estrutura frequentemente encontrada em representantes de Bromeliaceae, inclusive nas espécies do gênero *Ananas* (Tomlinson 1969; Sousa & Neves 1996; Souza *et al.* 2005; Barboza *et al.* 2006), devendo esta ausência ser uma característica desse novo cultivar, o que pode contribuir para sua caracterização taxonômica.

Conclui-se que as alterações morfológicas verificadas nas folhas das microplantas do abacaxizeiro cv. IAC “Gomo-de-mel” são resultantes da interferência da luz nas diferentes condições de aclimatização. As alterações não afetaram o desenvolvimento das microplantas em ambas as condições de luminosidade, não sendo necessário, portanto, o processo de rustificação para este cultivar.

## Agradecimentos

À Sra. Cássia Regina Fernandes Figueiredo, do Laboratório de Morfogênese e Biologia Reprodutiva de Plantas do Departamento de Ciências Biológicas, ESALQ-USP, Piracicaba, SP, pelo auxílio na preparação das lâminas histológicas; ao Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima, do NAP/MEPA-ESALQ-USP, Piracicaba, SP, pelo uso dos equipamentos para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura.

## Referências bibliográficas

- Almeida, O.A.; Souza, L.F.S.; Reinhardt, D.H. & Caldas, R.C. 2002. Influência da irrigação no ciclo do abacaxizeiro cv. Pérola em área de tabuleiro costeiro da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura** **24**: 431-435.
- Aoyama, E.M. & Sajo, M.G. 2003. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas. **Revista Brasileira de Botânica** **26**: 461-473.
- Barboza, S.B.S.C.B.; Graciano-Ribeiro, D.; Teixeira, J.B.; Portes, T.A. & Souza, L.A.C. 2006. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa agropecuária brasileira** **41**: 185-194.
- Cutter, E.G. 1978. **Plant anatomy - Part I: cells and tissues**. 2<sup>nd</sup> ed. London, Edward Arnold.
- Dalvesco, L.L.; Pescador, R.; Beló, A.; Feuser, S.; Oliveira, E.N.; Brancher, A.; Zaffari, G.R.; Nodari, R.O. & Guerra, M.P. 2000. Qualidade genotípica de mudas e performance a campo de plantas micropropagadas de abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura** **22**: 80-85.
- Dengler, N.G.; Dengler, R.E. & Hattersley, P.W. 1985. Differing ontogenetic origins of PCR (Kranz) sheaths in leaf blades of C4 grasses (POACEAE). **American Journal of Botany** **72**: 284-302.
- Dewald, M.G.; Moore, G.A. & Sherman, W.B. 1988. Identification of pineapple cultivars by isozyme. **Journal of American Society of Horticultural Science** **113**: 935-938.
- Dimock M.B. & Kennedy G.G. 1983. The role of glandular trichomes in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *Heliothis zea*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **33**: 263-268.
- Ehleringer, J.R. & Mooney, H.A. 1978. Leaf hairs: effect on physiological activity and adaptative value to a desert shrub. **Oecologia** **37**: 183-200.
- Ehrendorfer, F. 1973. Adaptive significance of major taxonomic characters and morphological trends in angiosperms. Pp. 317-327. In: V.H. Heywood (ed.). **Taxonomy and ecology**. London, Academic Press.
- Fahn, A. 1986. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. **Annals of Botany** **57**: 631-637.
- Guerra, M.P.; Vesco, L.L.D.; Pescador, R.; Schuelter R. & Nodari, R.O. 1999. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **34**: 1557-1563.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw Hill.
- Kaiser, E. 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. **Botanisch Zentralb** **180**: 25-26.
- Karnovsky, M.J. 1965 A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology** **27**: 137-138.
- Krauss, B.H. 1949. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. II. The leaf. **Botanical Gazette** **110**: 333-404.
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, Rima.

- Loeschen, V.S.; Martin, C.E.; Smith, M. & Eder, S.L. 1993. Leaf anatomy and CO<sub>2</sub> recycling during crassulacean acid metabolism in twelve epiphytic species of *Tillandsia* (Bromeliaceae). **International Journal of Plant Sciences** **154**: 100-106.
- Lyshede, O.B. 1982. Structure of the outer epidermal wall in xerophytes. Pp. 87-98. In: **The plant cuticle**. D.F. Cutler, K.L. Alvin & C.E. Price (eds.). London, Academic Press.
- Macedo, C.E.C.; Silva, M.G.; Nobrega, F.S.; Martins, C.P.; Barroso, P.A.V. & Alloufa, M.A.I. 2003. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25**: 501-504.
- Madison, M. 1977. Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. **Selbyana** **2**: 1-13.
- Mathews, V.H. & Rangan, T.S. 1974. Multiple plantlet in lateral bud leaf explant *in vitro* culture of pineapple. **Scientia Horticulturae** **14**: 227-234.
- Mauseth, J.D. 1988. **Plant anatomy**. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park.
- Metcalf, C.R. 1960. **Anatomy of the Monocotyledons**. Oxford, Clarendon Press.
- Moreira, M.A.; Pasqual, M.; Carvalho, J.G. & Fráguas, C.B. 2003. Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciências agrotécnicas** **27**: 1002-1006.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum** **15**: 473-497.
- Py, C. 1969. **La Piña Tropical**. Barcelona, Editorial Blume.
- Pyykkö, M. 1966. The leaf anatomy of east Patagonian xeromorphic plants. **American Journal of Botany** **68**: 6471.
- Sakai, W.S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. **Stain Technology** **48**: 247-249.
- Scatena, V.L. & Segecin, S. 2005. Anatomia foliar de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **28**: 635-649.
- Segatto, F.B.; Bisognin, D.A.; Benedetti, M.; Costa, L.C.; Rampelotto, M.V. & Nicoloso, F.T. 2004. Técnica para o estudo da anatomia da epiderme foliar de batata. **Cienc Rural** **34**: 1597-1601.
- Sousa, R.C.O.S. & Neves, L.J. 1996. Leaf anatomy of four *Tillandsia* species. **Bromelia** **3**: 28-39.
- Souza, G.M.; Estelita, M.E.M. & Wanderley, M.G.L. 2005. Anatomia foliar de espécies brasileiras de *Aechmea* subg. *Chevaliera* (Gaudich. ex Beer) Baker, Bromelioideae-Bromeliaceae. **Revista Brasileira de Botânica** **28**: 603-613.
- Sutter, E.G. & Hutzell, M. 1984. Use of humidity tents and antitranspirants in the acclimatization to tissue-cultured plants to the greenhouse. **Scientia Horticulturae** **23**: 303-312.
- Teixeira, J.B.; Cruz, A.R.R.; Ferreira, F.R. & Cabral, J.R. 2001. Biotecnologia aplicada à produção de mudas: produção de mudas micropropagadas de abacaxi. **Ciência e Desenvolvimento** **3**: 42-47.
- Tomlinson, P.B. 1969. Commelinales-Zingiberales. Pp. 295-421. In: C.R. Metcalfe (ed.). **Anatomy of the monocotyledons**. Oxford, Clarendon Press.
- Usberti Filho, J.A.; Siqueira, W.J.; Spironello, A.; Tanaka, M.A.S.; Sigrist, J.M.M.; Martins, A.L.M.; Bortoletto, N.; Tshako A.T. & Gushiken, A. 1999. **IAC Gomo-de-mel**. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas (Folder).
- Withner, C.L.; Nelson, P.K. & Wejksnora, P.J. 1974. The anatomy of orchids. Pp. 267-334. In: C.L. Withner (ed.). **The Orchids: scientific studies**. New York, John Wiley.
- Zepeda, C. & Sagawa, Y. 1981. In vitro propagation of pineapple. **Hort Science** **16**: 1-495.