

ANATOMIA FOLIAR DE CAFEEIROS SOB DEFICIÊNCIA DE ZINCO

Yonara Poltronieri¹; Hermínia Emilia P. Martinez²; Marília Contin Ventrella³; Paulo Roberto Cecon⁴

¹ Pesquisadora, D.Sc., EPAMIG-UREZM, Viçosa-MG, yonarapoltronieri@hotmail.com

² Professora Associada, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Herminia@ufv.br

³ Professora Associada, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, ventrella@ufv.br

⁴ Professor Associado, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, cecon@ufv.br

RESUMO: Embora a nutrição mineral contribua com a composição da organização estrutural, são poucos os trabalhos relacionando anatomia e nutrição do cafeeiro. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da deficiência de Zn na plasticidade anatômica foliar do cafeeiro. O experimento foi conduzido em Minas Gerais, Brasil, em uma lavoura de *Coffea arabica* L. cv Catuaí Vermelho IAC-99, com 10 anos de idade. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizados com 2 tratamentos (T0 - sem fornecimento de Zn e T1 - com fornecimento de Zn via pulverização foliar com ZnSO₄ a 0,4%) e 3 repetições. Foram determinadas as espessuras da folha, do mesófilo, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso, da epiderme da face adaxial, da epiderme da face abaxial, a relação parênquima paliçádico/lacunoso, a densidade estomática e o índice estomático. O não suprimento de Zn aumentou significativamente as espessuras da folha, do mesófilo e do parênquima lacunoso. Assim sendo conclui-se que o fornecimento de Zn afetou a anatomia foliar do cafeeiro.

Palavras-Chave: *Coffea arabica*, anatomia foliar, deficiência de zinco, nutrição mineral.

COFFEE LEAF ANATOMY UNDER ZINC DEFICIENCY

ABSTRACT: Although the plant nutrition contributes to the structural composition, there are few studies relating anatomy and coffee nutrition. Thus, this study aimed evaluates the effect of zinc deficiency on the leaf anatomical plasticity of coffee trees. The experiment was conducted in Viçosa, Brazil, in *Coffea arabica* L. cv Catuaí Vermelho IAC-99, with ten years age. The statistical design was completely randomized with 2 treatments (T0 – without zinc supply and T1- with zinc supply by leaf pulverization with ZnSO₄ – 0,4%) and 3 repetitions. There was determined the thickness of leaves, of mesophyll, of palisade parenchyma, of spongy parenchyma, of adaxial face epidermis and abaxial face epidermis, palisade parenchyma / spongy parenchyma ration, stomatic density and stomatic index. The Zn-deficiency increased significantly the leaf thickness, mesophyll and spongy parenchyma. Thus, it is concluded that the Zn-deficiency affect the leaf anatomy of coffee trees.

Key words: *Coffea arabica*, leaf anatomy, zinc deficiency, mineral nutrition.

INTRODUÇÃO

Diversos fatores, como a disponibilidade de luz, água e nutrientes podem alterar a estrutura interna da folha. Assim, o manejo da cultura exige uma atenção especial, pois o corpo do vegetal está dinamicamente relacionado com as condições de cultivo (Silva et al., 2005).

Se um dos elementos químicos essenciais à planta está disponível em quantidades insuficientes ou em combinações químicas que são pobremente absorvidas, a deficiência deste elemento provocará desarranjos nos processos metabólicos da planta (Epstein & Bloom, 2006). Esses desarranjos podem afetar a estrutura interna da planta, podendo ocorrer alterações na diferenciação vascular, estrutura foliar, e ultraestrutura celular, bem com a perda da integridade da parede celular (Dickison, 2000).

A maioria das lavouras cafeeiras de Minas Gerais apresenta deficiência por Zn, comprometendo a produção de grãos. Uma das características visuais do sintoma de deficiência de Zn, frequentemente relatada na literatura, é o aspecto típico das folhas, geralmente pequenas, estreitas e lanceoladas, sendo as mais novas coriáceas e quebradiças, além de clorose internerval (Malavolta et al., 1997, Epstein & Bloom, 2006).

Dedecca (1957) foi o primeiro a descrever a anatomia do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Posteriormente alguns trabalhos foram desenvolvidos relacionando os efeitos do ambiente na anatomia do cafeeiro.

Voltan et al. (1992) estudaram os efeitos de diferentes intensidades luminosas na anatomia foliar de cafeeiros e observaram que sob condições de maior radiação ocorre um espessamento foliar promovido principalmente pela expansão das células do mesófilo. Os autores verificaram também aumento no número de estômatos por unidade de área foliar. Corroborando este resultado, Silva (2002) observou que uma maior radiação aumentou a espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso, o número de estômatos e a espessura foliar.

Gomes et al. (2008) observaram em cafeeiros sombreados menor espessura das folhas e espaços intercelulares maiores no tecido lacunoso. Nos cafeeiros a pleno sol estes autores verificaram mudança na forma dos cloroplastos, os quais se apresentaram mais alongados quando comparados aos cafeeiros arborizados.

Carvalho et al. (1998) observaram em *Coffea canephora* cv. Conilon aumento na espessura foliar após exposição a baixas temperaturas.

Queiroz-Voltan et al. (1998) estudaram as alterações anatômicas em folhas e caules de ramos de cafeeiros infectados com *Xylella fastidiosa* e constataram a deposição de goma no xilema do caule, pecíolo e folha, assim como divisões celulares anormais no xilema, floema e córtex.

Embora a nutrição mineral contribua com a composição da organização estrutural, são poucos os trabalhos relacionando anatomia e nutrição do cafeeiro.

Assim sendo, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da deficiência de Zn na plasticidade anatômica foliar do cafeeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento, instalado em novembro de 2006, foi conduzido em área da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, em uma lavoura de *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho IAC-99, com 10 anos de idade. A área experimental localizava-se a 20° 45' Sul e 42° 51' Oeste à 581m de altitude acima do nível do mar. O solo da área experimental era do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo e o clima classificado como Cwa segundo Köppen com temperatura e precipitação médias anuais de 19,4°C e 1.221,4 mm, respectivamente.

A calagem e a adubação foram realizadas com base em análises de solos e nas recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (Guimarães et al., 1999).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizados com 2 tratamentos (T0 - sem fornecimento de Zn e T1 - com fornecimento de Zn via pulverização foliar com ZnSO₄ a 0,4%) e 3 repetições. Cada parcela foi constituída de 33 plantas, em espaçamento de 3x1m dispostas em três fileiras. Consideraram-se como parcela útil nove plantas dispostas na fileira central da parcela.

Aos 203 dias após a implantação dos tratamentos procedeu-se a amostragem do quarto par de folhas completamente expandidas, partindo-se do ápice dos ramos plagiotrópicos produtivos, situados no terço médio do cafeeiro, para as avaliações anatômicas e para a determinação do conteúdo foliar de Zn.

Para o estudo anatômico foram tomadas porções do terço médio do limbo foliar, de uma folha por parcela útil, compreendendo a nervura central e a região internervural, fixadas em FAA₅₀ (formaldeído + ácido acético glacial + álcool 50%, na proporção de 5:5:90) por 48 horas, e estocado em etanol 70% (Johansen, 1940). Amostras de aproximadamente 0,25 cm² da região mediana da lâmina foliar, compreendendo a nervura de primeira ordem e parte da região internervural, foram incluídas em metacrilato (Historesin – Leica), de acordo com as recomendações do fabricante. O material emblocado foi seccionado transversalmente com 5 µm de espessura, em micrótomo rotativo. As lâminas com as seções transversais foram coradas com azul de toluidina, para metacromasia (O'Brien et al., 1964), e montadas sob lamínula com resina sintética (Permout).

Para a observação da superfície foliar, porções da lâmina foliar foram submetidas ao processo de diafanização (Johansen, 1940), coradas com violeta cristal e montadas entre lâmina e lamínula com resina sintética (Permout).

As imagens digitalizadas, correspondentes às seções transversais e à superfície foliar, foram obtidas através de microscópio de luz (Olympus AX70 TRF) com sistema U-PHOTO, acoplado a câmera fotográfica digital (Spot Insightcolour 3.2.0) e microcomputador com o programa de captura de imagens Spot Basic. As medidas lineares e as contagens foram realizadas com o programa ANATI QUANTI versão 2.0, segundo recomendação de Aguiar et al. (2007).

Na região internervural foram determinadas as seguintes características anatômicas quantitativas: espessura da folha, do mesofilo, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso, da epiderme da face adaxial, da epiderme da face abaxial e a relação parênquima paliçádico/lacunoso. Em cada repetição, foi considerada a média de 10 medidas em um campo com objetiva de aumento 20 e zoom digital de aumento 1,0. Na região da nervura principal, foi feita apenas uma análise qualitativa do tecido vascular, uma vez que a proporção dos tecidos e a morfologia da região variam muito em decorrência da ramificação de nervuras de segunda ordem e presença de domácias.

Para a determinação da densidade estomática (estômatos mm⁻²) e do índice estomático ($= [n^{\circ} \text{estômatos} / n^{\circ} \text{estômatos} + n^{\circ} \text{células epidérmicas comuns}] \times 100$), considerou-se a média de três campos analisados por repetição.

As análises anatômicas quantitativas foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa/MG.

Para determinação do conteúdo foliar de Zn as amostras foliares coletadas foram lavadas em água desionizada, submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 70°C, até pesos constantes, pesadas e trituradas em moinho tipo Willey. As concentrações de Zn foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC, 1975) no extrato da digestão nítrico-perclórica (Johnson & Ulrich, 1959).

Para o cálculo do conteúdo foliar de Zn, o peso da matéria seca total (g) das folhas por parcela (nove plantas por parcela útil) foi dividido pelo número de folhas amostradas (36) e multiplicado pela concentração de Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) obtendo-se o conteúdo foliar de Zn (μg).

Os dados referentes à anatomia quantitativa da lâmina foliar foram submetidos à análise de variância sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste “F” a 10% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultivar Catuai Vermelho IAC 99 de *Coffea arabica* L. apresenta nas folhas uma epiderme unisseriada, tanto na face adaxial como na face abaxial (Figura 1A-B), onde os estômatos estão localizados (Figura 1B-C). O mesofilo é dorsiventral, apresentando parênquima paliçádico voltado para a face adaxial da lâmina e parênquima lacunoso na face abaxial. O parênquima paliçádico é unisseriado com células alongadas, justapostas, de espessura uniforme e com seus maiores eixos perpendiculares à epiderme. O parênquima lacunoso apresenta células arredondadas e, de modo geral, possui um arranjo frouxo com abundantes espaços intercelulares. Imerso no parênquima lacunoso, dispõem-se os feixes vasculares colaterais correspondentes às nervuras de menor calibre. Nas regiões de inserção das nervuras de segunda ordem com a nervura principal é comum a presença de domácias.

No tratamento sem fornecimento de Zn, verifica-se que o conteúdo foliar de Zn foi menor do que o do tratamento com fornecimento deste elemento (Tabela 1). Observa-se também que o não suprimento do nutriente aumentou significativamente as espessuras da folha, do mesofilo e do parênquima lacunoso (Tabela 1). A diferença observada na espessura do limbo foi ocasionada pela maior espessura do mesofilo, uma vez que não se observou variação na espessura da epiderme, em nenhuma das faces da folha (Figuras 1A e 1B). Resultados semelhantes foram encontrados por Sharma & Sharma (1987) em plantas de couve-flor sob deficiência de Zn, onde a espessura da lâmina foliar aumentou e as células do mesofilo foram relativamente maiores quando comparadas às folhas das plantas com suprimento de Zn.

Tabela 1 – Conteúdo foliar de Zn (CF), espessura da folha (EF), espessura do mesofilo (EM), espessura do parênquima paliçádico (PP), espessura do parênquima lacunoso (PL), proporção entre o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso (PPPL), espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura da epiderme abaxial (EAB), densidade estomática (DE) e o índice estomático (IE) de folhas de cafeeiro sem fornecimento de Zn (T0) e com fornecimento de Zn (T1)⁽¹⁾

Trat.	CF μg	Dados anatômicos do limbo foliar								
		EF	EM	PP	PL	PPPL	EAD	EAB	DE	IE
		----- μm -----						mm ²	%	
T0	4,0b	278,3a	232,6a	54,3a	178,3a	0,30a	26,9a	18,8a	164,8a	17,8a
T1	15,3a	255,4b	210,0b	57,1a	152,9b	0,38a	26,0a	19,4a	154,7a	15,0a
CV	27,8	3,9	5,8	24,7	6,0	31,8	2,7	12,1	37,7	21,9

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste F a 10% probabilidade

Quanto à proporção entre os tecidos parenquimáticos (parênquima paliçádico/parênquima lacunoso) não foram observadas diferenças significativas.

Também não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para densidade estomática, porém, verifica-se na Tabela 1, tendência do tratamento sem fornecimento de Zn apresentar densidade estomática maior que a do tratamento com fornecimento de Zn. Um dos sintomas da deficiência de Zn é a diminuição da área foliar (Malavolta et al., 1997; Epstein & Bloom, 2006) e a densidade estomática é inversamente proporcional à área da lâmina foliar (Gupta, 1961). Portanto, a tendência observada corrobora com o sintoma de deficiência de Zn.

Fato semelhante ocorreu com o índice estomático, que também não apresentou diferença estatística, no entanto apresentou a mesma tendência observada na densidade estomática, sendo que o tratamento sem fornecimento de Zn apresentou maior valor. Um maior índice estomático indica que houve aumento, em porcentagem, do número de estômatos em relação ao total de células epidérmicas. Este fato evidencia um investimento das plantas na produção de estômatos para otimizar o aproveitamento da área da epiderme (Pereira, 2008).

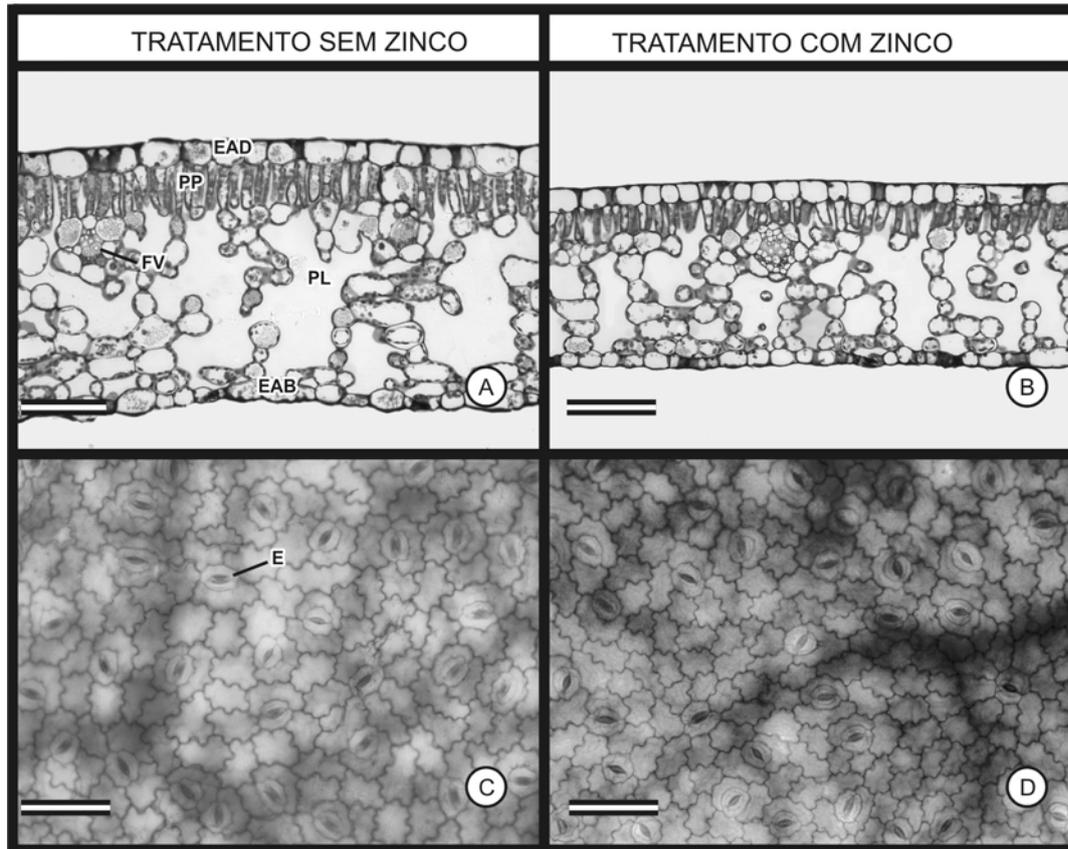


Figura 1. Seções transversais da região internervural (A e B) e paradérmicas (C e D) de folhas de cafeeiro com e sem fornecimento de Zn. EAD: epiderme da face adaxial; EAB: epiderme da face abaxial; FV: feixe vascular; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso; E: estômato. Barra corresponde a 100 µm.

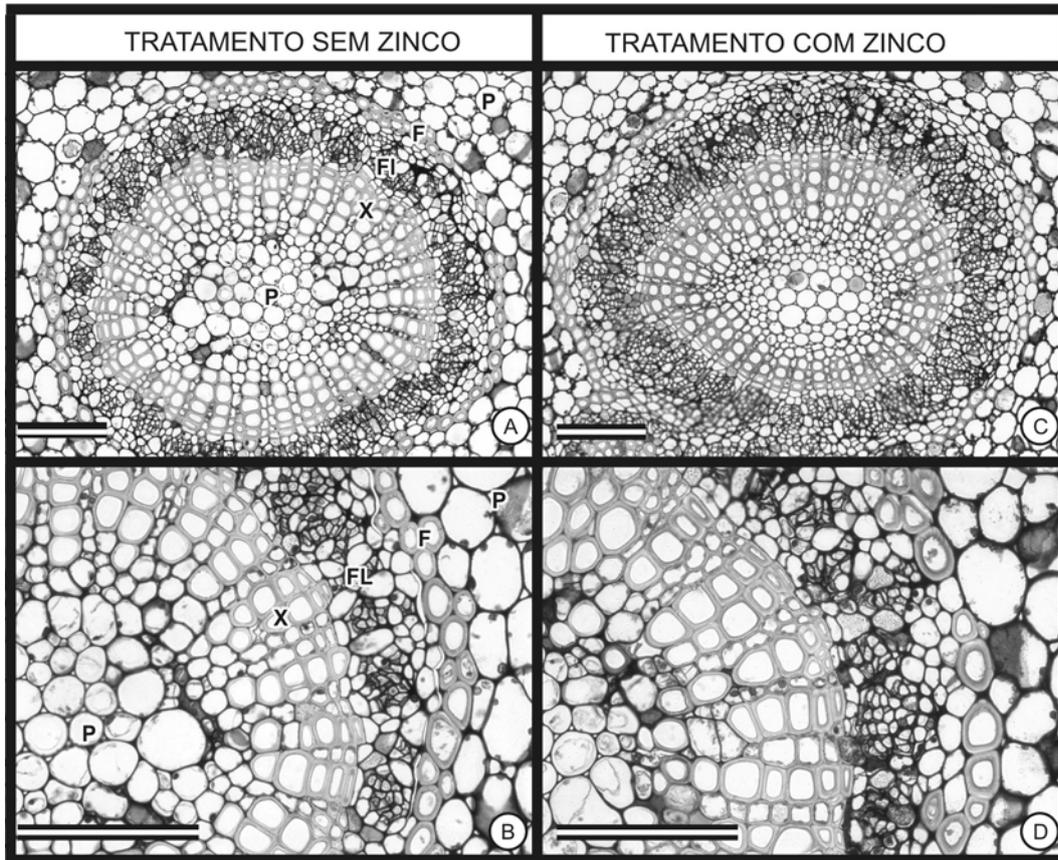


Figura 2 - Seções transversais da região da nervura principal (A e C) e detalhe do tecido vascular (B e D) de folhas de cafeeiro com e sem fornecimento de Zn. F: fibras; FL: floema; P: parênquima; X: xilema. Barra corresponde a 100 μ m.

A análise microscópica das secções transversais da nervura principal do terço médio das folhas de ambos os tratamentos não apresentou diferenças estruturais no sistema vascular (Figura 2). As plantas do tratamento sem fornecimento de Zn não apresentaram sinais de desorganização dos tecidos, sendo a estrutura da nervura típica do cafeeiro (Dedecca, 1957). Rosolem et al. (2005) também não observaram modificações no tecido vascular em folhas de cafeeiros submetidos a deficiência de Zn.

CONCLUSÕES

O fornecimento de Zn afetou a anatomia foliar, sendo que sob deficiência deste elemento ocorreu aumento das espessuras do limbo foliar, do mesófilo e do parênquima lacunoso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR T.V.; SANT'ANNA-SANTOS B.F.; AZEVEDO A.A.; FERREIRA R.S. ANATI QUANTI: Software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v.25, n.4, p.649-659, 2007.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12ed. Washington: AOAC, 1975. 1094p.
- CARVALHO, L.M.; SILVA, E.A.M; MOSQUIM, P.R; AZEVEDO, A.A.; CECON, P.R. Alterações morfofisiológicas em cafeeiros submetidos a baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.10, n.2, p.131-136, 1998.
- DEDECCA, D.M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. Var. *Typica* Cramer. **Bragantia**, v.16, p.315-366, 1957.
- DICKISON, W.C. **Integrative plant anatomy**. San Diego: Academic Press, 2000. 533p.
- EPSTEIN, M.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. 2ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.
- GOMES, I.A.C.; CASTROII, E.M.; SOARES, A.M.; ALVES, J.D.; ALVARENGA, M.I.N.; ALVES, E.; BARBOSA, J.P.R.A.D; FRIES, D.D. Alterações morfofisiológicas em folhas de *Coffea arabica* L. cv. "Oeiras" sob influência do sombreamento por *Acacia mangium* Willd. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p.109-115, 2008.

- GUIMARÃES, P.T.G.; GARCIA, A.W.R.; ALVAREZ V., V.H.; PREZOTTI, L.C.; VIANA, A.S.; MIGUEL, A.E.; MALAVOLTA, E.; CORRÊA, J.B.; LOPES, A.S.; NOGUEIRA, F.D.; MONTEIRO, A.V.C. Cafeeiro. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. (Eds.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais – CFSEMG, 1999. p.289-302.
- GUPTA, B. Correlation of tissues in leaves. Absolute stomatal numbers. **Annals of Botany**, v.25, n.97, p.71-77, 1961.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- JOHNSON, C.M.; ULRICH, A. **Analytical methods for use in plants analyses**. Los Angeles, University of California, 1959. v.766, p.32-33.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v.59, p.368-373, 1964.
- PEREIRA, F.J. **Caracterização das modificações morfo-anatômicas e bioquímicas, em ciclos de seleção do milho Saracura, para tolerância ao encharcamento do solo**. Lavras: UFLA, 2008. 78p. (Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; PARADELA FILHO, O.; CARELLI, M.L.C.; FAHL, J.I. Aspectos estruturais de cafeeiro infectado com *Xylella fastidiosa*. **Bragantia**, v.57, 1998. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87051998000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
Acesso em:21/05/2009
- ROSOLEM, C.A.; SACRAMENTO, L.V.S.; OLIVEIRA, D.M.T. Kinetics of zinc uptake and anatomy of roots and leaves of coffee trees as affected by zinc nutrition. **Journal of Plant Nutrition**, v.28, p.2101-2112, 2005.
- SHARMA, C.P.; SHARMA, P.N. Mineral nutrient deficiencies affect plant water relations. **Journal of Plant Nutrition**, v.10, n.9-16, p.1637-1643, 1987.
- SILVA, L.M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasileira**, v.19, n.1, p.183-194, 2005.
- SILVA, S.L.O. **Respostas biofísicas, bioquímicas e anatômicas de plantas de *Coffea arabica* L. Em condições contrastantes de disponibilidade de radiação**. Lavras: UFLA, 2002. 45p. (Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- VOLTAN, R.B.Q.; FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C. Variação na anatomia foliar de cafeeiro submetidos a diferentes intensidades luminosas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.4, n.2, p.99-105, 1992.