

Observações anatômicas em plantas de *Coffea arabica* L. obtidas por enraizamento de estacas

Adriana Madeira Santos Jesus¹, Samuel Pereira de Carvalho², Evaristo Mauro de Castro^{3*}, Carlos Nick Gomes⁴

RESUMO

Uma forma para se obter diminuição significativa de tempo e recursos despendidos nos programas de melhoramento de *Coffea arabica* L. é a clonagem de híbridos F₁ por meio de estacas caulinares. Alguns estudos, em diferentes instituições, foram realizados buscando-se definir um método eficiente para esse tipo de clonagem. Com o objetivo de verificar-se a presença de barreiras anatômicas ao enraizamento de estacas caulinares do cafeeiro e a origem das raízes adventícias, bem como compara-las às raízes provenientes de plantas obtidas por sementeira, foram realizadas análises anatômicas no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Utilizaram-se estacas caulinares de cafeeiro dos cultivares Acaí e Rubi e mudas obtidas por sementeira direta e por estaquia. Os cortes realizados nas estacas caulinares mostraram não existirem barreiras anatômicas ao enraizamento adventício. Nas estacas enraizadas, a origem do primórdio radicular foi próxima aos tecidos vasculares. Cortes histológicos nas raízes formadas nas estacas e nas raízes de mudas obtidas por sementeira confirmaram que elas apresentam as mesmas estruturas primárias.

Palavras-chave: Cafeeiro, clonagem, barreiras anatômicas.

ABSTRACT

Anatomical observations in rooted cuttings of *Coffea arabica* L.

F₁ hybrid cloning using rooting of cuttings is a way to achieve less expensive and quicker *Coffea arabica* improvement. Cloning is still a problem in *Coffea arabica* improvement and has been studied by different institutions to develop an efficient methodology. This work aimed to search for the presence of anatomical barriers to rooting of coffee stem cuttings and the origin of adventitious roots, comparing them with the structure of seedling tap roots. Anatomical analyses of young coffee plants were carried out at the Biology Department of the Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Plants of the cultivars Acaí and Ruby obtained by rooting of cuttings and seedlings were analyzed. No anatomical barriers to adventitious rooting were found in the rooted cuttings. In the cloning plants the rooting arose in close to the vascular tissues. The anatomical study of adventitious roots in the rooted cuttings and seedlings showed the same primary structures.

Key words: Coffee, cloning, anatomical barriers.

Recebido para publicação em maio de 2007 e aprovado em dezembro de 2009

¹ Engenheira Agrônoma, Doutora. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, R. Afonso Rato, 1301, Mercês, Caixa Postal 12, 39400-000 Nova Porteirinha, Minas Gerais, Brasil. madeiradri@yahoo.com.br

² Engenheiro Agrônomo, Doutor. Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Campus universitário, s/n, Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras, Minas Gerais, Brasil. samuelpc@ufla.br

³ Engenheiro Florestal, Doutor. Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Campus universitário, s/n, Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras, Minas Gerais, Brasil. emcastro@ufla.br

⁴ Engenheiro Agrônomo, Mestre. Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, Campus Universitário, s/n, 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, Brasil. karlnickbr@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Embora as pesquisas sobre a propagação vegetativa há muito venham sendo realizadas, essa técnica não tem sido praticada em grande escala em *Coffea arabica*, sendo as sementes a principal forma de propagação (Sylvain, 1979, Evans, 1958; Mendes, 1950). Recentemente, os trabalhos com híbridos F₁, obtidos a partir dos cruzamentos Icatu x Catimor, Icatu x Catuaí e Catuaí x Híbrido de Timor-Leste, despertaram novamente o interesse pela propagação vegetativa desse material em escala comercial, visando manter a heterozigose para produtividade e a expressão favorável para caracteres de interesse, como a resistência à ferrugem.

Uma opção bastante viável para a propagação de híbridos de cafeeiro em escala comercial, e mesmo a manutenção de materiais de interesse ainda em heterozigose nos programas de melhoramento, é a propagação vegetativa via enraizamento de estacas, tal como se faz em *Coffea canephora*. Diferentes respostas ao enraizamento foram observadas por alguns pesquisadores em *C. arabica*. A porcentagem de estacas enraizadas, utilizando diferentes métodos e materiais genéticos, varia de 20 a 99% (Romeiro, 1973; Martins, 1985; Rezende, 1996; Bergo, 1997; Pereira, 2000).

O conhecimento da estrutura interna do caule facilita a compreensão do processo de formação dos primórdios de raízes adventícias em estacas caulinares, uma vez que os mesmos podem ter diferentes origens histológicas. Segundo Fahn (1995), raízes adventícias podem se desenvolver a partir de raízes já formadas, do hipocótilo de plantas jovens e do corpo primário de caules e de folhas. Primórdios de raízes adventícias podem ser formados nas seguintes regiões das plantas: epiderme, tecido cortical do hipocótilo (*Cardamine pratensis*, *Rorippa austriaca*), periciclo do caule (*Coleus* sp., *Zea mays*), parênquima xilemático (*Tropaeolum majus*, *Lonicera japonica*, *Tamarix* sp.), parênquima floemático (*Hedera helix*), entre o floema e o câmbio vascular (*Rosa*), câmbio interfascicular e periciclo (*Portulaca oleracea*), câmbio interfascicular, periciclo e floema (*Begonia* spp.) ou gemas (*Cotoneaster dammeri*).

A organização da estrutura de raízes adventícias e sua sequência de desenvolvimento são semelhantes às das raízes laterais, entretanto pode ocorrer a presença de medula em raízes adventícias quando sua origem é no caule, como em monocotiledôneas, observado em *Dickya* spp. por Pita & Menezes (2002). Em raízes derivadas da radícula embrionária geralmente a presença de medula não é observada, mas pode ocorrer parênquima medular com potencialidade vascular. Em condições de produção de estacas, pequeno grupo de células parenquimáticas torna-se meristemático e continua a se dividir formando meriste-

moides, as quais se desenvolvem em primórdios de raízes (Dedecca, 1957; Esau, 1993; Hartmann *et al.*, 1997).

Existem plantas com diferentes habilidades para emitir raízes em estacas. Segundo Ono & Rodrigues (1996), plantas com primórdios de raízes adventícias pré-formadas enraizam facilmente, como ocorre em *Salix* e em muitas plantas com raios vasculares amplos sem tais primórdios (*Vitis vinifera*, *Tamarix* spp.). Estacas de *Ceratonia*, *Pyrus* e *Carya* que não têm primórdios dormentes e nas quais os raios são estreitos enraizam com dificuldade. Em espécies de gimnospermas como *Agathis australis*, a estaca pode levar meses para desenvolver raízes (Ono & Rodrigues, 1996). Os mesmos autores afirmam também que as raízes podem se originar das células epidérmicas, do floema secundário e do periciclo.

O desenvolvimento de um anel contínuo de esclerênquima entre o floema e o córtex, externamente ao ponto de origem das raízes adventícias, possivelmente constitui barreira anatômica ao enraizamento, conforme citam Hartmann *et al.* (1997), uma vez que a formação desse tecido está sempre associada à maturidade da planta. Portanto, as informações na literatura a respeito da formação de raízes adventícias demonstram a importância das características anatômicas para o desenvolvimento desses órgãos. O objetivo deste trabalho foi verificar a possível existência de barreiras anatômicas para o desenvolvimento de raízes adventícias em estacas de *Coffea arabica* a fim de subsidiar possíveis estudos que visem à aplicação dessa técnica na propagação dessa espécie de elevado valor econômico.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises anatômicas foram feitas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O material coletado foi lavado em água corrente e depois fixado por 72 horas em F.A.A. (5 mL de formaldeído, 5 mL de ácido acético e 90 mL de etanol 70%); posteriormente, conservado em etanol 70% (Johansen, 1940).

Foram utilizadas estacas caulinares de ramos ortotrópicos de *Coffea arabica* e mudas obtidas por semeadura direta e por estaquia dos cultivares Acaia e Rubi. Os cortes transversais foram realizados à mão livre e corados com safra-blau, uma solução de safranina e azul de astra (Kraus & Arduin, 1997; Pereira *et al.*, 2008). A montagem das lâminas foi feita com água glicerizada e as fotomicrografias obtidas em um microscópio Olympus BX-60, acoplado a uma câmera digital (Souza *et al.*, 2009).

As amostras constituíram-se de estacas dos dois cultivares, correspondentes à porção mediana dos ramos ortotrópicos retirados da região entre o primeiro e o segundo, segundo e terceiro, terceiro e quarto e quarto e

quinto nós da planta. Em cada região de aproximadamente 30 cm foram coletadas cinco estacas de 6 cm de comprimento, totalizando assim 20 amostras.

A determinação do local de origem das raízes adventícias foi realizada por meio de seções anatômicas, em cinco estacas, dos dois cultivares, após a emissão das raízes adventícias.

Para a comparação entre as raízes das mudas obtidas por estaquia e por semeadura direta foram utilizadas seis repetições por tipo de muda para cada cultivar. Cada repetição constituiu-se de uma planta. As determinações da espessura da epiderme, do córtex e do cilindro vascular da raiz foram efetuadas por meio de seções transversais montadas em lâminas semipermanentes medidas com a utilização de ocular micrométrica, em dois locais distintos de cada amostra.

Para a contagem dos feixes vasculares foram utilizados 18 cortes por tipo de muda. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Visando agrupar médias semelhantes aplicou-se o teste de Scott Knott.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas anatômicas observadas nas bases das estacas de cafeeiros dos cultivares Acaiá e Rubi, do segundo ao quinto nós, foram semelhantes entre si. São estruturas primárias típicas, constituídas de três sistemas de tecidos: o dérmico, o fundamental e o vascular. As estacas apresentaram células de tecido esclerenquimático, ocorrendo em faixas não-contínuas ao redor dos tecidos vasculares, fornecendo sustentação e proteção e não atuando como barreira anatômica à emergência do primórdio radicular (Figuras 1 e 2). Isso foi confirmado pela observação em experimentos de enraizamento em que as estacas emitiram raízes, independentemente do nó (Bergo, 1997; Ono *et al.*, 1992; Pereira, 2000).

A bainha de esclerênquima perivascular, quando se apresenta contínua, oferece obstáculo ao crescimento das raízes, desviando-as de seu curso normalmente radial

(Stangler, 1956; Lopes, 1995; Castro *et al.*, 2009). Em estudos com estacas obtidas de ramos maduros de *Hedera helix* de difícil enraizamento, de *Olea europea* L. e *Ficus pumila*, esses autores verificaram que a presença do anel esclerenquimático estava sempre associada com as estacas recalcitrantes, enquanto aquelas de fácil enraizamento foram caracterizadas pela descontinuidade ou por poucas camadas de células no anel de esclerênquima.

A origem das raízes foi a mesma para qualquer um dos tratamentos aplicados nos experimentos de enraizamento. Os cortes da região de enraizamento mostraram que as raízes adventícias tiveram origem nas células próximas ao câmbio vascular para os dois cultivares (Figura 3). Resultados similares foram obtidos por Lopes (1995) em estacas de mangueira em que as raízes adventícias sempre surgiam nas proximidades do câmbio vascular. Em videira, Pacheco *et al.* (1998) verificaram que as raízes adventícias tiveram origem endógena e sua formação ocorreu nas proximidades da região cambial e não no tecido caloso. A mesma origem das raízes adventícias foi relatada por outros autores (Satoo, 1955; Stangler, 1956; Esau, 1993; Pratt, 1974; Al Barazi & Schwabe, 1982; Hartmann *et al.*, 1997; Lebrun *et al.*, 1998).

A comparação da estrutura das raízes de *Coffea arabica* oriundas da radícula do embrião demonstra semelhança com as raízes adventícias de estacas (Figura 4). Esse fato pode ser justificado pela existência de parênquima medular na raiz primária de cafeeiro; entretanto, este tecido possui potencialidade vascular. A análise quantitativa dos tecidos demonstra que para o cultivar Acaiá, as espessuras da epiderme, o diâmetro do cilindro vascular e a espessura do córtex, bem como o número de pólos de protoxilema, não exibiram diferenças estatísticas (Tabelas 1 e 2), e para o cultivar Rubi foram detectadas diferenças estatísticas para o número de pólos de protoxilema e para o diâmetro do cilindro vascular, sendo esses valores maiores para as raízes oriundas de estacas (Tabela 2).

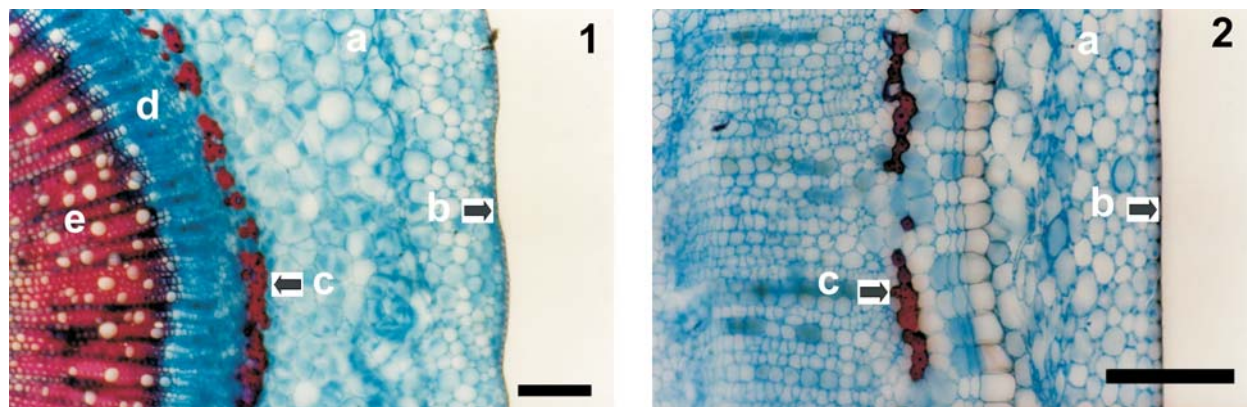


Figura 1. Seções transversais da base de estacas caulinares de *Coffea arabica* cultivar Acaiá. (a) = córtex, (b) = epiderme, (c) = anel esclerenquimático perivascular, (d) = floema e (e) = xilema. As barras indicam 200 μ m.

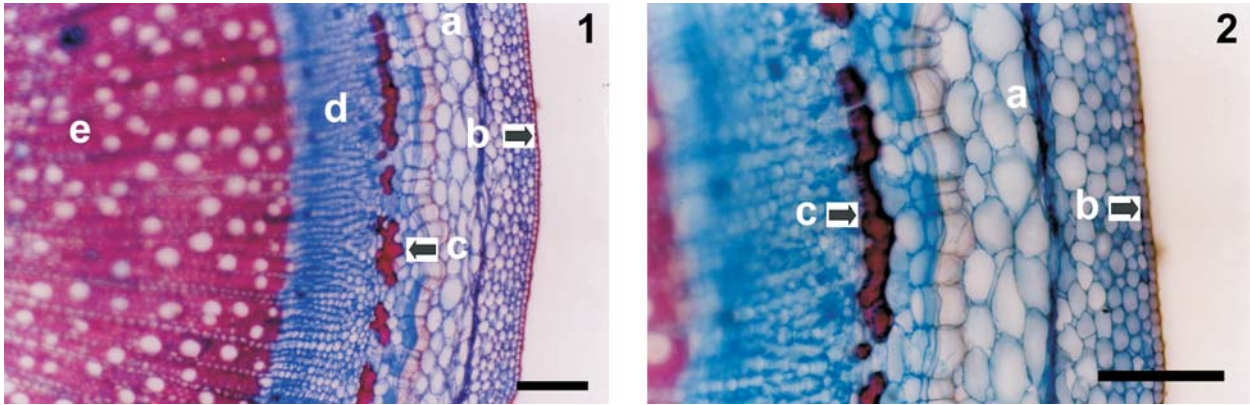


Figura 2. Seções transversais da base de estacas caulinares de *Coffea arabica* cultivar Rubi. (a) = córtex, (b) = epiderme, (c) = anel esclerenquimático perivascular, (d) = floema e (e) = xilema. As barras indicam 200 µm.

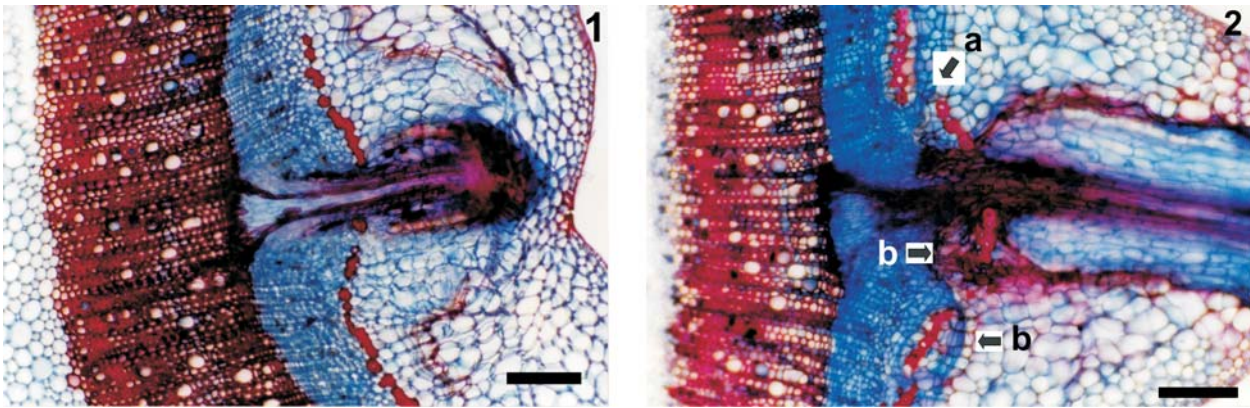


Figura 3. Seções transversais da base de estacas caulinares de *Coffea* sp. (1) = desenvolvimento do primórdio radicular; (2) (a) = espaço entre as fibras do anel esclerenquimático e (b) = detalhe da região e origem do primórdio radicular próximo à região cambial. As barras indicam 200 µm

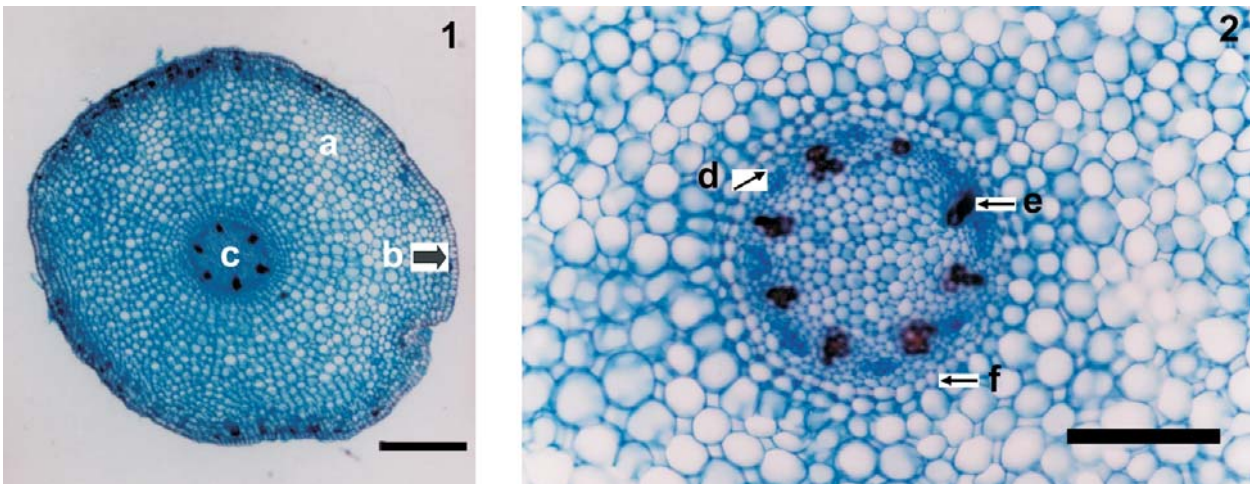


Figura 4. Seções transversais de raízes de *Coffea arabica*. 1) estrutura típica da raiz oriunda de sementes (a) = córtex, (b) = epiderme e (c) = cilindro vascular. 2) estrutura típica da raiz adventícia oriunda de estacas (d) = periciclo, (e) = pólos de protoxilema e (f) = endoderme. As barras indicam 200 µm.

Essas características observadas para os tecidos das raízes demonstram que as raízes adventícias do cultivar Acaiá exibiram padrões semelhantes às primárias. Fato que pode ser benéfico para o desenvolvimento das estacas. Com relação ao aumento do diâmetro do cilindro

vascular para as raízes adventícias nas plantas do cultivar Rubi, é provável que haja aumento na condutividade hidráulica dessas raízes, visto que a condutividade hidráulica da raiz está diretamente relacionada com o diâmetro do cilindro vascular.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para as características número de pólos de protoxilema, espessura do cilindro vascular, espessura do córtex e espessura da epiderme

Fontes de variação	GL	Quadrado Médio			
		Número de pólos de protoxilema	Espessura do cilindro vascular	Espessura do córtex	Espessura da epiderme
Mudas	3	0,0131*	14777,6728**	6646,9863	0,0031
Repetição	5	00,0014	4948,7158	11918,3782	0,0024
Resíduo	15	00,0025	1581,1675	05180,6865	0,0035
Total	23				
CV(%)		6,13	15,22	17,88	4,17

* e **, Significativos 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 2. Número de pólos de protoxilema, diâmetro do cilindro vascular, espessura do córtex e espessura da epiderme em micrômetro (µm) de raízes de mudas de cafeeiro 'Acaia' e 'Rubi' obtidas por estaquia caulinar e por semeadura

	Número de pólos de protoxilema	Diâmetro do cilindro vascular	Espessura do córtex	Espessura da epiderme
Acaia semente	6,0 b	248,7417 b	373,4262 a	28,1042 a
Acaia estaca	6,0 b	230,3750 b	396,6250 a	24,9375 a
Rubi semente	6,0 b	231,1667 b	450,3000 a	26,5208 a
Rubi estaca	7,0 a	334,5583 a	389,8958 a	25,0167 a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Dedecca (1957), em seus estudos com a variedade *Typica*, observou que é variável o número de pólos de protoxilema associado ao floema primário nas raízes dos diferentes indivíduos ou nas raízes de um mesmo indivíduo. Nessas plantas foram frequentes as raízes com 6, 7, 8, 9 e 11 pólos de protoxilema.

CONCLUSÕES

As raízes adventícias em *Coffea arabica* cv Acaia e Rubi têm origem nas células próximas ao câmbio vascular.

As estruturas primárias das raízes adventícias caulinares não diferem das estruturas das raízes de mudas obtidas por semente.

A bainha do esclerênquima perivascular nas estacas estudadas é descontínua, não atuando como barreira anatômica à emergência do primórdio radicular.

REFERÊNCIAS

- Al Barazi Z & Schwabe WW (1982) Rooting softwood cuttings of adult *Pistacia vera*. *Journal of Horticultural Science*, 57:247-252.
- Bergo CL (1997) Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) através do enraizamento de estacas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 62p.
- Castro EM, Pereira FJ & Paiva R (2009) Histologia Vegetal: Estrutura e Função de Órgãos Vegetativos. Lavras, UFLA. 234p.
- Dedecca DM (1957) Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. *Typica* Cramer. *Bragantia*, 23:31-365.
- Esau K (1993) Anatomia das plantas com semente. 12ª ed. São Paulo, Edgard Blucher. 293p.
- Evans HR (1958) Recent work on the propagation of coffee from cuttings in Kenya. *Tropical Agriculture*, 35:65-76.
- Fahn A (1995) Plant anatomy. 4ª ed. Exeter, BPC Wheatons. 588p.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FR & Geneve RL (1997) Plant propagation: principles and practices. 6ª ed. New Jersey, Prentice-Hall. 770p.
- Johansen DA (1940) Plant microtechnique. 2ª ed. New York, MC Gray Hill. 523p.
- Kraus JE & Arduin M (1997) Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica, Edeir. 198p.
- Lebrun A, Toussaint AN & Roggemans J (1998) Description of *Syzygium paniculatum* Gaertn. 'Verlaine' and its propagation by stem cuttings. *Scientia Horticulturae*, 75:103-111.
- Lopes MC (1995) Propagação vegetativa da mangueira (*Mangifera indica* L.) por estaquia. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Piracicaba. 59p.
- Mendes JET (1950) Culturas intercalares em cafezais. *Boletim da Superintendência dos Serviços do Café*, 25:498-504.
- Martins ABG (1985) Uso de reguladores de crescimento no enraizamento de estacas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 23p.
- Ono EO, Rodrigues JD & Pinho SZ (1992) Interações entre auxinas e ácido bórico, no enraizamento de estacas caulinares de *Coffea arabica* L. cv. *Mundo Novo*. *Scientia Agricola*, 49:23-27.

- Ono EO & Rodrigues JD (1996) Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares. Jaboticabal, Funep. 83p.
- Pacheco AC, Castro PRC & Appezzato-da-Glória B (1998) Aspectos anatômicos do enraizamento da videira muscadínia (*Vitis rotundifolia* Michx.) através de alporquia. *Scientia agricola*, 55:210-217.
- Pereira AB (2000) Enraizamento de estacas de *Coffea arabica* L. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 75p.
- Pereira FJ, Castro EM, Souza TC & Magalhães PC (2008) Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43:1649-1656.
- Pita PB & Menezes NL (2002) Anatomia da raiz de espécies de *Dyckia* Schult. f. e *Encholirium* Mart. Ex Schult. & Schult. f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), com especial referência ao velame. *Revista Brasileira de Botânica*, 25:25-34.
- Pratt C (1974) Vegetative anatomy of cultivated grapes - a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25:131-150.
- Rezende RA (1996) Efeito de fitoreguladores, antioxidante e defensivos na propagação vegetativa *in vivo* e *in vitro* de *Coffea arabica* L. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 51p.
- Romeiro RS (1973) Enraizamento de estacas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em leito de areia. *Seiva*, 29:1-8.
- Satoo S (1955) Origin and development of adventitious roots in layered branches of 4 species of conifers. *Japanese Forest Society Journal*, 37:314-316.
- Souza TC, Castro EM, Pereira FJ, Parentoni SN & Magalhães PC (2009) Morpho anatomical characterization of root in recurrent selection cycles for flood tolerance of maize (*Zea mays* L.). *Plant Soil and Environment*, 55:504-510.
- Stangler BB (1956) Origin and development of adventitious roots in stem cuttings of chrysanthemum, carnation, and rose. *New York Agricultural Experiment Station Memory*, 34:3-24.
- Sylvain PC (1979) Inovaciones Agrotécnicas en Caficultura. Iica-Oea, Costa Rica. 34p.