

## ESTUDO ANATÔMICO DA ENXERTIA EM Citrus spp.\*

C. Shimoya

C. J. Gomide

José Maurício Fortes\*\*

### I. INTRODUÇÃO

Dá-se o nome de enxerto, em Fitotecnia, ao processo de multiplicação vegetativa artificial de plantas, que tem por fim transformar uma planta rude ou resistente que recebe o nome de porta-enxerto ou cavalo, em outra de melhor qualidade, que se deseja propagar e que recebe o nome de enxerto ou cavaleiro. A planta assim formada, recebe o nome de muda ou planta enxertada.

O processo de enxertia é bastante empregado na Fitotecnia para resolver uma série de problemas, tais como:

1. propagar clones, que não apresentam outro meio de propagação;
2. proporcionar à planta um sistema radicular e caulinar resistente a pragas ou doenças;
3. induzir nanismo em fruteiras, para facilitar o seu manejo;
4. induzir uma frutificação precoce;
5. facilitar os trabalhos de melhoradores de essências flo-

\* Recebido para publicação em 18/10/67.

\*\* Respectivamente, Prof. de Botânica da Escola de Pós-Graduação da UREMG, Prof. Assistente de Botânica Geral e Sistemática da Escola Superior de Agricultura da UREMG e Professor Assistente da Cadeira de Fruticultura Geral e Especial da Escola Superior de Agricultura da UREMG.

restais, trazendo os ramos para parte basilar;  
6. restauração de plantas e muitas outras aplicações.

Conclui-se, deste modo, a grande importância da enxertia. Ao par desta importância, e em razão do fenômeno da pega do enxerto ser muito mal esclarecida, propõe-se a realização deste trabalho.

Há um conceito bastante generalizado no nosso meio, isto é, que no processo de enxertia deve haver justaposição dos tecidos do cavalo e do cavaleiro, e neste particular o tecido cambial exerce uma função de capital importância.

Surge, portanto, a necessidade de se conhecer a anatomia, a histogênese, enfim, a fisiologia vegetal. Por outro lado, há várias modalidades de enxerto, tais como: burbulhia, garfagem, encostia etc. e se forem consideradas estas modalidades, o conceito de justaposição torna-se á de difícil compreensão, visto que a forma e o tamanho das peças, geralmente, diferem muito. Nos casos de enxerto embutido e de garfagem, cujos diâmetros não diferem muito, ainda são compreensíveis as citações acima, mas no caso de enxerto por burbulhia, talvez o mais empregado, não teria uma explicação satisfatória, segundo o referido conceito.

Segundo JANICK (3), a técnica fundamental de enxertia consiste na colocação do tecido cambial do cavalo e cavaleiro em íntima associação, de sorte que o tecido do calo daí resultante se entrelace, a fim de formar uma conexão contínua. AROEIRA (1) descreve bem as seqüências da atividade cambial como se fossem de câmbio normal, mas não de enxerto. SIMÃO (7) diz o quanto a afinidade anatômica é necessária para o perfeito desenvolvimento da planta. A base da enxertia consiste na íntima associação dos tecidos cambiais, de modo a formarem uma conexão contínua. O tecido meristemático entre o xilema (lenho) e o floema (líber) está, segundo à espécie, em contínua atividade, e como na enxertia não há intertroca de células, cada tecido continua a fabricar as suas. Quando há células de tamanho, forma e consistência distintas, ocorre a incompatibilidade. HESS (2) é de opinião contrária a dos autores acima referidos e diz que a formação do tecido de união da enxertia se dá da seguinte maneira: "Logo após a enxertia há uma produção abundante de células, principalmente, na região dos raios vasculares (região do floema). O cavalo produz mais tecidos e este não é diferenciado inicialmente e constitui o que se chama de "calo". Quando os tecidos calosos do cavalo e cavaleiro se en-

contram, processa-se então a soldadura. Nesta união parcial já ocorre passagem de água e nutrientes de um para o outro. Deste modo, inicia-se o mecanismo da pega.."

Os autores acreditam que no fenômeno de enxertia a regressão dos tecidos do cavalo e do cavaleiro, para formação de calo é de grande importância, e neste particular os raios vasculares e parênquimas devem exercer a principal função, que é o objetivo deste trabalho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O material de enxerto de Citrus limon (L.) Burm. (limoeiro) com Citrus sinensis (L.) Osbeck, variedade 'Baianinha', foi coletado no viveiro do Instituto de Fitotecnia da Escola Superior de Agricultura da UREMG, executado no laboratório de Botânica, da mesma Instituição.

Empregou-se a modalidade de enxerto de olho, também denominado de borbulha, ou de gema, que é o mais simples e de emprego mais generalizado (4). Este processo recebe também o nome de escudagem, porque a parte da casca retirada com a gema que tem a forma mais ou menos triangular ou oblonga, semelhante a um escudo. Em relação ao porta-enxerto, o método de escudagem foi de introdução subcasca. No processo de introdução subcasca nenhuma parte da casca do porta-enxerto é retirada, e sim cortada e levantada para receber a borbulha. A incisão adotada foi o tipo T invertido, em razão de sua fácil execução e pelo fato de dar também ao enxerto mais proteção contra a umidade. O enxerto foi amarrado com fita plástica, para assegurar melhor proteção e dar maior segurança no êxito da operação.

As plantas enxertadas foram tratadas normalmente, como de uso corrente na prática. Em torno de 20 dias, foi retirado o amarrilho, nesta época, já se percebe perfeitamente se a soldadura ocorre ou não. Alguns exemplares foram deixados com plástico até 92 dias.

Fez-se uma série de cortes: longitudinais e transversais, com intervalo aproximadamente de 5 dias, em um período de 100 dias. A espessura dos cortes que variava de 30 a 50 micrometros. Os cortes foram fixados em Fluido FAA (álcool etílico a 50% 90 ml + ácido acético 5 ml + formal 5 ml) e corados em hematoxilina de Delafieldt e pelo método de tripla coloração de Flemming. As microfotografias foram obtidas com Fotomicroscópica Mikroma de Zeiss.

### 3. OBSERVAÇÃO E DISCUSSÃO

Iniciou-se o estudo do fenômeno de enxertia em Citrus spp. com a anatomia do enxerto (borbulha), conforme mostra a figura 1, que consta dos seguintes tecidos: epiderme, parenquima cortical, líber, câmbio e cujos tecidos apresentam-se na face seccionada, de maneira concêntrica, terminando na parte central, com o lenho, que dará certa consistência e facilidade na operação de enxertia.

O câmbio é um tecido meristemático, secundário, que existe entre o lenho e o líber em toda a extensão, de uma maneira contínua e uniforme, nas dicotiledóneas lenhosas ou perenes. JANICK (3) diz que a técnica fundamental da enxertia consiste no entrelaçamento do tecido do calo formado a fim de se ter uma conexão contínua entre os tecidos, porém, isto é possível no caso de enxertia por garfagem. No presente trabalho, essa justaposição entre as duas peças seria impossível, em razão das diferenças anatômicas. O câmbio do cavalo, talvez, forme o tecido caloso, que venha favorecer a sua formação de fato.

A enxertia consiste na união das partes em evidência, até que ocorra a regeneração dos tecidos físico e fisiologicamente, permitindo o desenvolvimento das partes unidas como se fossem uma única planta. Neste particular, no presente trabalho, o tecido parenquimatoso exerce papel bastante importante, visto que ele promove a primeira ligação ou soldadura. Assim, é que quanto maior a quantidade ou superfície de contato de parênquima de ambas partes, maior será o êxito da operação. As figuras 2 (M) e 3 mostram, além do parênquima cortical, parênquima medular da folha, (M) podendo ocorrer às vezes parênquima do espinho, bem como os do raios lenhosos, na zona do enxerto, o que concorre para aumentar a possibilidade de pega do mesmo.

Segundo SHIMOYA (6), uma observação importante deve ser lembrada; o estado vivo caracteriza-se pelas modificações mais ou menos constantes no ser, que variam de intensidade ou profundidade, de acordo com a influência do meio e com os fatores ontogênico e filogenético. Em outras palavras, os seres vivos não possuem estruturas histológicas ou anatômicas fixas ou definitivas, como acontece com os minerais, de onde se conclui a importância do estudo dinâmico da anatomia ou anatomia fisiológica. As modificações anató-

micas e funcionais dos tecidos estudados confirmam o pensamento acima.

Por motivo de ordem técnica, o início do estudo foi com material de 7 dias, mas o fenômeno de pega, é bem possível que tenha ocorrido no primeiro dia, visto que observações complementares mostraram que nesta idade já inicia-se a formação do "tecido caloso". A soldadura iniciou-se pela periferia (FIG. 6, 8, 10, e 12) e se estende para o centro, a medida que o tecido caloso se forma (FIG. 5, 7, 9 e 13). Muitas vezes não ocorre uma perfeita justaposição, isto é, contato perfeito entre o porta-enxerto e o enxerto (FIG. 16). Quando isso ocorre, observa-se desenvolvimento exagerado do parênquima cortical do enxerto para alcançar a superfície do porta-enxerto.

Em seção transversal, na região mediana do enxerto, observa-se no porta-enxerto o início da transformação regressiva da última camada do lenho em toda a sua extensão, onde sofrera separação da casca (FIG. 4, 5, 10, 11, 12 e 13). O espaço vazio, ou fresta, ocasionado na enxertia é preenchido pelo parênquima, formado pela incisão do lenho (FIG. 4 e 14).

Talvez, seja por mera coincidência, tenha sido observado em alguns exemplares um desenvolvimento maior do lenho, como que invadido a medula do cilindro central do porta-enxerto, na face correspondente ao enxerto (FIG. 15).

O fenômeno de regeneração do enxerto continua progressivamente, e aos 47 dias os lábios levantados do porta-enxerto, na ocasião do enxerto, já possuem um tecido cortical perfeito, conforme mostra a figura 17, e a ligação do enxerto propriamente dito é quase perfeita (FIG. 18).

No enxerto que permaneceu com o plástico até aos 47 dias foi observado o fenômeno seguinte: 1.º houve ligação pelo parênquima, mas o processo de vascularização, neste tecido, quase que não foi observado (FIG. 20); 2.º houve formação do lenho normal no enxerto, num processo contínuo, como se fosse em caules e ainda, entre a formação primitiva e posterior, observa-se um fenômeno semelhante ou idêntica a da zona de regeneração do porta-enxerto (FIG. 19 e 20). Permanecendo com o plástico até aos 92 dias, foi observado a morte ou não formação da gema e o lenho formado neste período se dispõe em camadas, conforme a figura 22.

Os enxertos normais com 60 dias, que foram desamarados aos 20 dias, apresentaram com broto de 10 a 14 cen-

tímetros de comprimento, com 15 a 18 folhas (FIG. 21).

Nos cortes de enxertos normais, com 47 dias de idade, observou-se uma perfeita regeneração dos tecidos. Tanto o porta-enxerto como o enxerto produziram calos, estes transformaram-se em parênquima, talvez de um tipo heteroblástico (4). Em seguida, a ligação histológica observada em ambas peças, foi a de raios vasculares (FIG. 23 e 24), mais tarde verificou-se a ligação de todos os tecidos (FIG. 25) e, finalmente, estabeleceu-se a nova organização histológica ou anatômica (FIG. 26).

#### 4. CONCLUSÕES

A pega do enxerto de Citrus limon (L.) Burm. (limoeiro) com Citrus sinensis (L.) Osbeck, cultivar 'Baianinha', deve ocorrer no primeiro dia.

A soldadura se dá pelo parênquima existente ou formado durante o processo de enxertia. Neste particular, a medula basilar da folha e do espinho, caso ocorra, deve favorecer essa moldura.

A justaposição do enxerto com a parte do porta-enxerto deve ser a mais perfeita possível, a fim de facilitar o êxito da operação.

O período de amarra deve ser estritamente necessário, do contrário poderá dificultar ou impedir o desenvolvimento normal do enxerto.

A primeira ligação histológica se dá pelo parênquima denominado "calo", seguido-se a ligação através do parênquima dos raios vasculares.

#### 5. RESUMO

Nos estudos anatômicos da pega do enxerto de Citrus limon (L.) Burm. (limoeiro) com Citrus sinensis (L.) Osbeck, cultivar 'Baianinha', foram observados, em linhas gerais, os seguintes fenômenos:

A soldadura do enxerto com 7 dias é perfeita, e ocorre na região terminal ou subterminal da borbulha. É bem possível que o início do fenômeno de pega do enxerto ocorra no primeiro dia da operação, com a formação do calo.

A soldadura se dá pelo parênquima de ambas peças. Assim o parênquima da medula da folha, bem como o do es-

pinho, deve favorecer a pega. Neste fenômeno, os raios lenhosos da última camada, portanto recém-formados, que são parênquimas, provavelmente sirva para reforçá-la.

Em face dos itens acima, a justaposição perfeita do enxerto com o porta-enxerto facilita a operação de soldadura.

No enxerto mal justaposto, observou-se o desenvolvimento da porção cortical do mesmo, no sentido de alcançar o tecido do porta-enxerto. Neste caso, além da demora, causa a imperfeição da soldadura.

No processo normal retira-se o amarrilho com 18 a 20 dias. Alguns exemplares enxertados foram deixados, propósitamente com plástico até 92 dias. Nas plantas, cujos plásticos foram removidos em tempo adequado ou normal, apresentaram com a brotação de 10 a 14 centímetros de comprimento, com 15 a 18 folhas. Naquelas em que o amarrilho de plástico permaneceu, observou-se, então, no enxerto, a formação de várias camadas lenhosas concêntricas sem ocorrer a formação de brotos, que talvez tenham sido abortados.

Em cortes de enxerto normal, com 47 dias, verificou-se perfeita regeneração dos tecidos.

Em síntese, conclui-se, que o fenômeno da pega do enxerto se dá pelo tecido parênquimatoso. Os demais tecidos sofrem regressão formando calo, e estes, uma vez em contato, soldam-se, estabelecendo a primeira ligação e, posteriormente, a ligação vascular. Deste ponto em diante, começa a organização anatômica do enxerto, em tecidos definitivos.

## 6. SUMMARY

Anatomical studies of bud grafting of Citrus limon (L.) Burn. on Citrus sinensis (L.) Osbeck during the taking phase have shown the following pattern of events.

Soldering was complete within seven days after budging operation and it occurs in terminal or subterminal regions of the bud. It may be that soldering starts on the first day after the graftage.

Soldering occurs through the parenchyma tissue in both bud and stock. Leaf pith parenchyma as well as spine parenchyma may thus help the taking. Young parenchyma cells of vascular rays may also be involved. Where contact between scion and stock was poor, a cortical tissue developed from the scion toward the cortical tissue of the stock. In this case,

the taking was imperfect and very much delayed in time.

The taking phenomenon starts through the formation of parenchyma tissue in both scion and stock. Other tissues present in both stock and scion, around the graft, suffer a regression and originate a callus. Calluses of scion and stock when in touch with each other fuse together, thus establishing the first linking bridge. Next, differentiation of the vascular linkage takes place. Finally the anatomical organization of the graft or bud occurs.

Usually, the plastic strips that support the buds are removed within 18 to 20 days after the graftage, buds are then 10-14 cm long, with 15 to 18 leaves. When the strip was left on for 92 days, several concentric woods layers without bud development were observed. It is assumed that the buds died.

## 7. LITERATURA CITADA

1. AROEIRA, J. S. Fruticultura Geral. I.<sup>a</sup> Parte. Viçosa, Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, 1960, 125 p. (Apostila mimeografada).
2. HESS, E. C. Curso Intensivo de Fisiologia Vegetal Aplicada à Horticultura. Viçosa. Departamento de Horticultura da Escola Superior de Agricultura, UREMG, 1965. (Apostila mimeografada, Compilada por Rena A. Braga).
3. JANICK, J. A Ciência da Horticultura. Rio de Janeiro, Agência Norte-Americana para o Desenvolvimento Internacional USAID. 1966. 485 p.
4. MAHLSTEDE, J. P. and HABER, E. S. Plant Propagation. New York, John Wiley & Sons. 1957. 413.
5. NEVILLE, P. Corrélations morphogénés entre les différentes parties de la feuille de Gleiditschia triancanthos L. Paris. Annales des Sciences Naturelles, Botanique, 1964. Série 5: 785-798.
6. SHIMOYA, C. Anatomia do escapo floral do cacaueiro Theobroma caco L. (Interpretação do fenômeno "Pecor"). Viçosa. Rev. Ceres, 1967. 14(78): 13-45.

7. SIMÃO, S. Fruticultura Geral. Piracicaba, ESALQ. 1966.  
105 p. (Apostila mimeografada).

#### 8. LEGENDA DAS FIGURAS

FIG. 1 - Desenho esquematizado de um corte da borbulha, na secção longitudinal, com duas vistas, à esquerda longitudinal mediana e à direita vista facial, cujas partes estão representadas nas microfotografias 2 e 3. Desenho x ca 6.

FIG. 2 - Corte longitudinal da borbulha, mostrando a região mediana da fig. 1 (M), à esquerda, os primórdios foliares tendo, no centro, a medula circundada pelos traquídes em desenvolvimento. Microfotografia x ca 60.

FIG. 3 - Idem, à esquerda, corresponde a região subterminal da borbulha, fig. 1 (S). Observa-se o prolongamento da medula (M) da folha; a direita, a região terminal, fig. 1 (T). Idem x ca 60.

FIG. 4 - Idem transversal do porta-enxerto, com 7 dias, mostrando a fenda provocada na operação de enxerto, parcialmente preenchida pela parênquima. Idem x ca 60.

FIG. 5 - Idem, da região mediana, mostrando lacuna entre o porta-enxerto e enxerto. Idem x ca 355.

FIG. 6 - Corte longitudinal do enxerto, com 7 dias, na região subterminal, mostrando o aspecto da soldadura. Parte superior representa o enxerto e inferior o porta-enxerto. Idem x ca 60.

FIG. 7 - Idem, na região mais central, mostrando a formação parênquima em ambas partes. Idem x ca 60.

FIG. 8 - Idem, na região terminal. Idem x ca 60.

FIG. 9 - Mostrando a formação calosa. Idem x ca 355.

FIG. 10 - Corte transversal do enxerto, com 7 dias, mostrando a soldadura da região periférica em que o enxerto está envolvido pela casca do porta-enxerto. Idem x ca 60.

FIG. 11 - Idem mostrando a zona de transformação do lenho do porta-enxerto, partindo do último anel lenhoso, na parte terminal ou periférica, observa-se a formação de parênquima. Idem x ca 60.

FIG. 12 - Idem, parcial do enxerto, mostrando a anatomia de um espinho. Idem x ca 60.

FIG. 13 - Idem, mostrando o aspecto da soldadura e a zona de transformação do lenho do porta-enxerto. Idem x ca 60.

FIG. 14 - Aspecto de um corte transversal do enxerto com 47 dias, mostrando a fenda do porta-enxerto totalmente preenchido pelo parênquima. Idem x ca 283.

FIG. 15 - Idem, da medula e do lenho do porta-enxerto. Idem x ca 283.

FIG. 16 - Aspecto geral de um enxerto, mal ajustado, em que se observa, à direita, uma área que sofreu contato, à esquerda, afastamento, onde se nota o desenvolvimento da região cortical do enxerto para atingir o porta-enxerto. Idem x ca 283.

FIG. 17 - Idem, parcial, mostrando, à direita, o enxerto, à esquerda, a casca e o lenho do porta-enxerto em regeneração. Idem x ca 283.

FIG. 18 - Idem, mostrando a ligação histológica entre o enxerto e o porta-enxerto, na região periférica. Idem x ca 283.

FIG. 19 - Mostrando aspecto do corte transversal do enxerto, com 47 dias, cujo desenvolvimento foi retardado pela não retirada do amarrilho de plástico em época adequada. Idem x ca 47.

FIG. 20 - Idem, a união do enxerto e porta-enxerto e o desenvolvimento da medula do enxerto em relação ao porta-enxerto. Idem x ca 47.

FIG. 21 - À direita, o desenvolvimento normal do enxerto com 60 dias. À esquerda, o mesmo, mostrando o aspecto da região do enxerto mais ampliado.

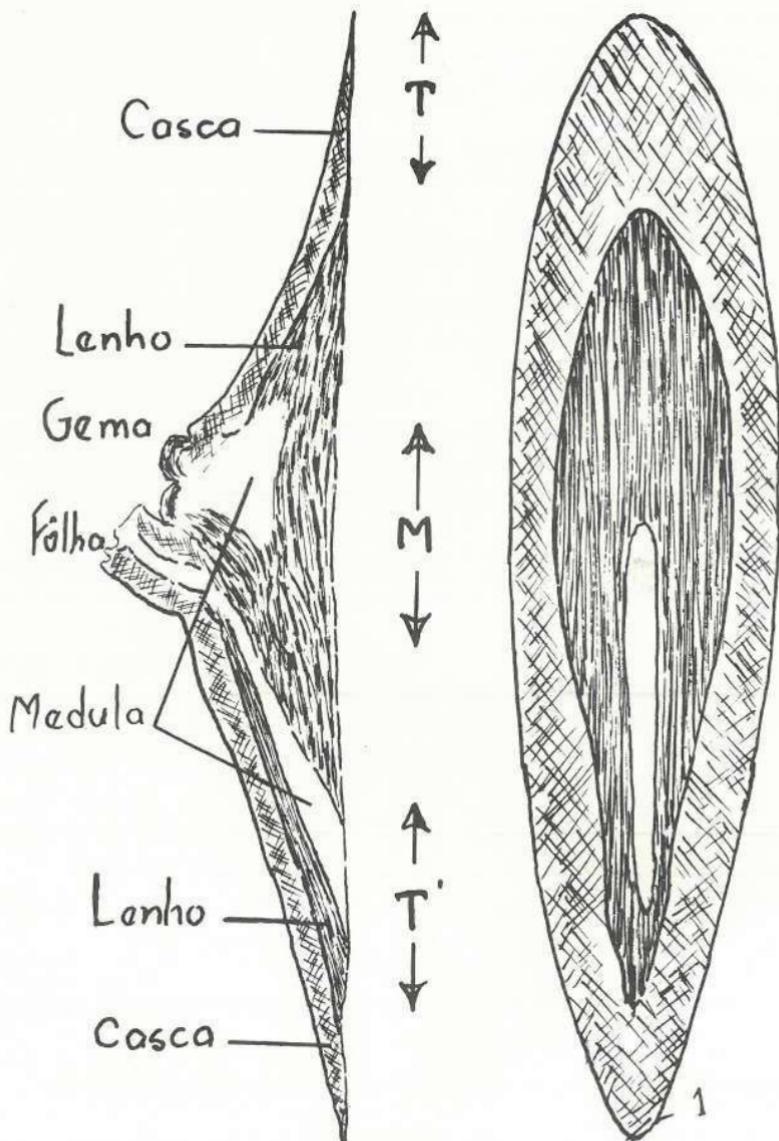
FIG. 22 - Corte transversal do enxerto, com 92 dias, com amarrilho, mostrando aspecto da medula e formação de novas camadas dos elementos lenhosos. Microfotografia x ca 47.

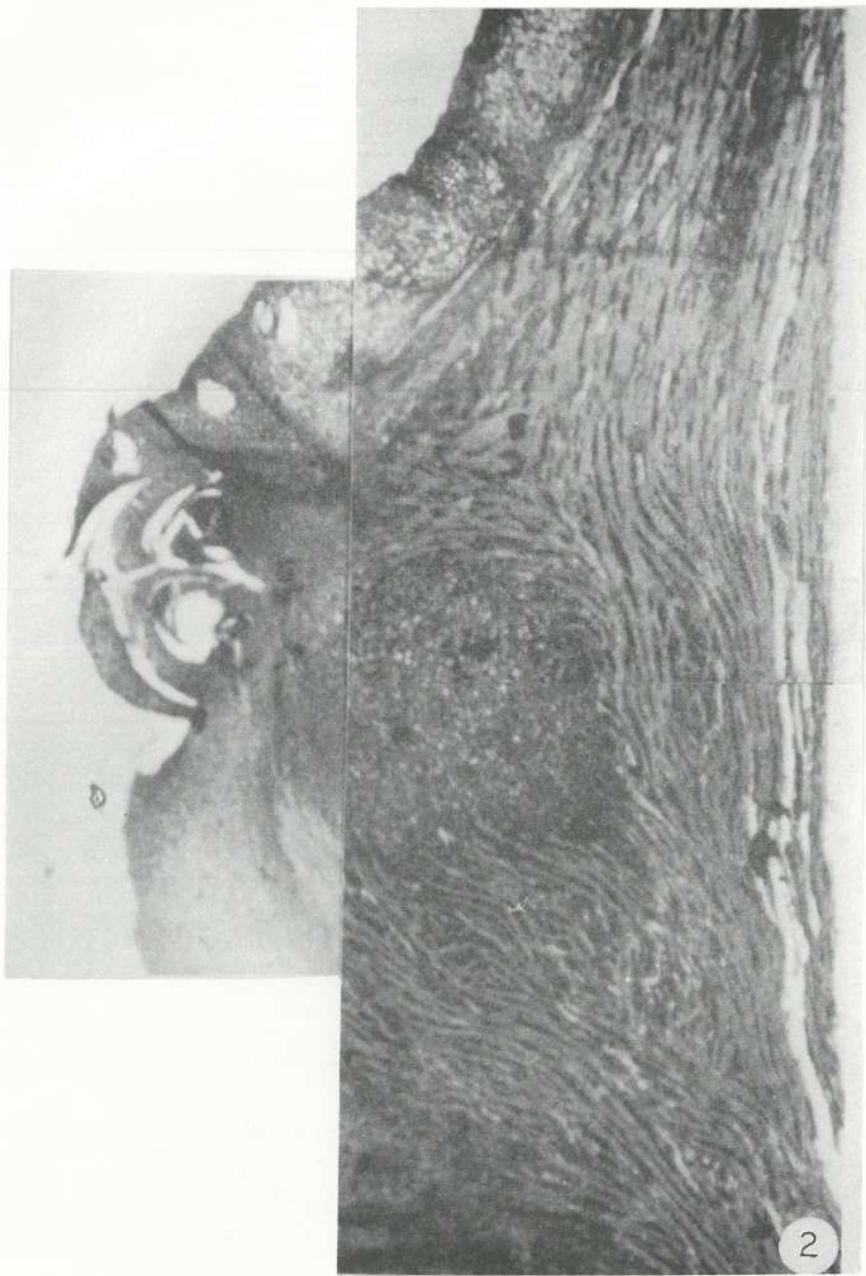
FIG. 23 - Corte transversal do enxerto mostrando assoldadura e início de formação de raios vasculares. Idem x ca 454.

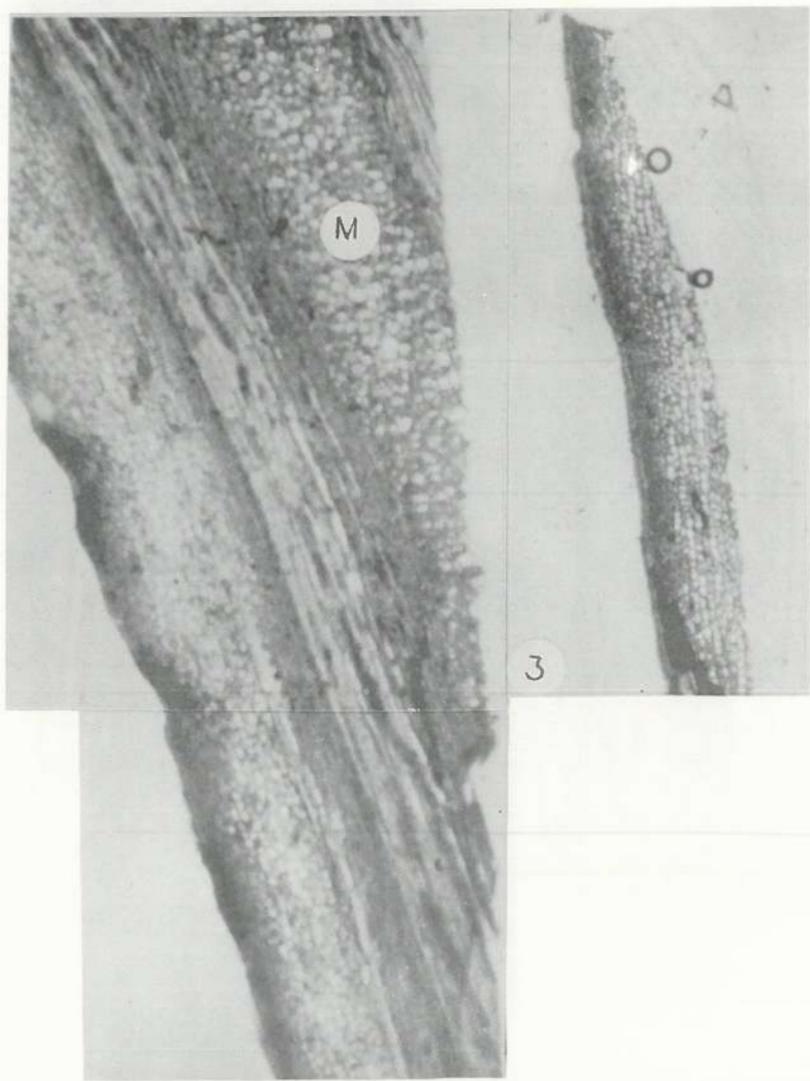
FIG. 24 - Idem, corresponde a figura 23, porém, em estádio mais adiantado em que se observa a ligação dos raios vasculares. Idem x ca 454.

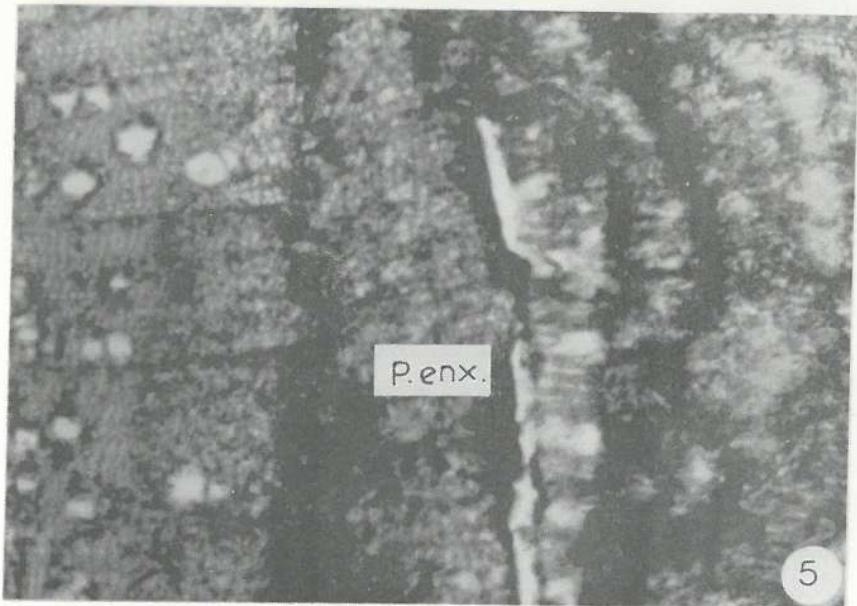
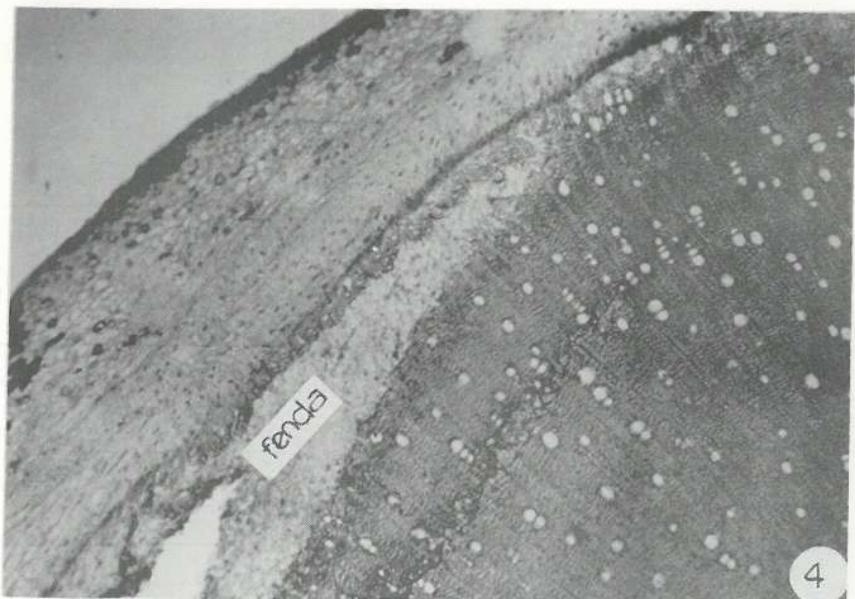
FIG. 25 - Idem, mais adiantado, em que mostra, a direita, abaixo, último sinal de soldadura. Idem x ca 454.

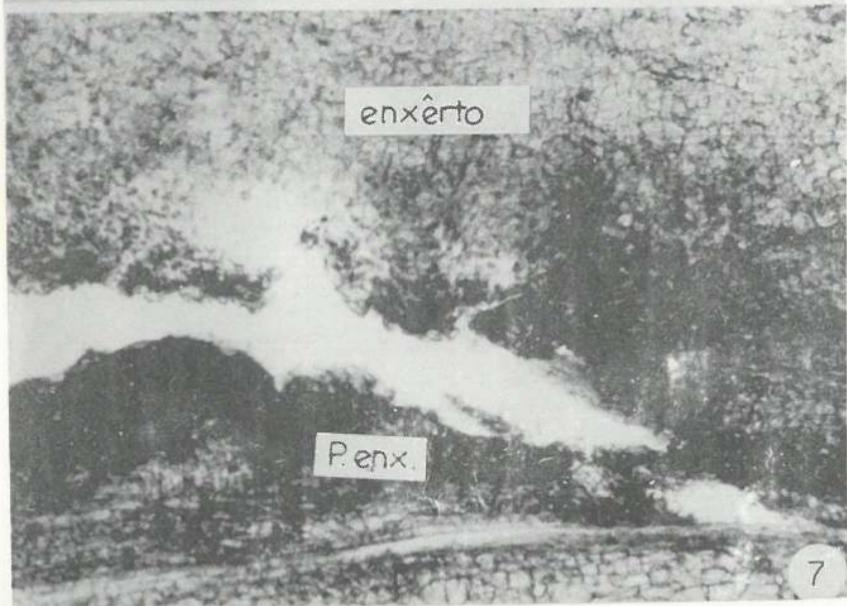
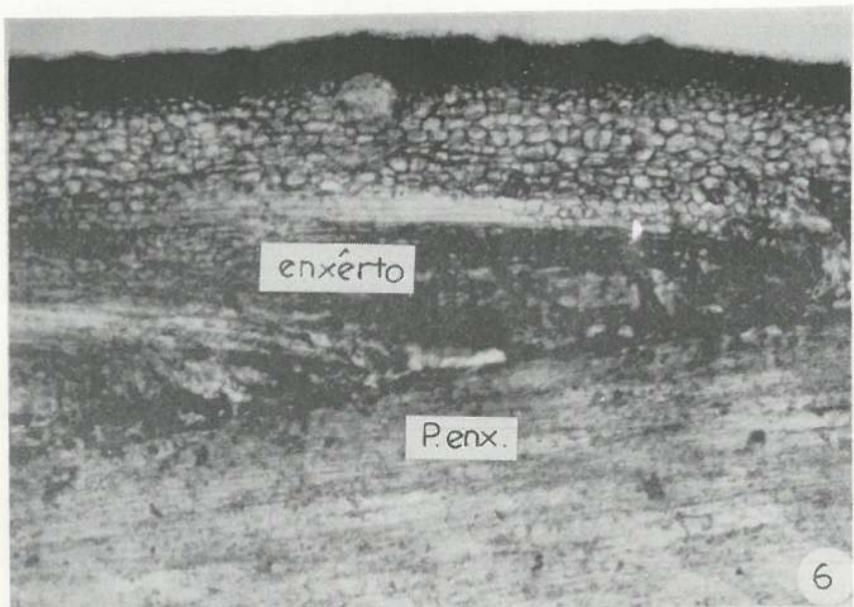
FIG. 26 - Idem, mais adiantado que fig. 25. Idem x ca 454.

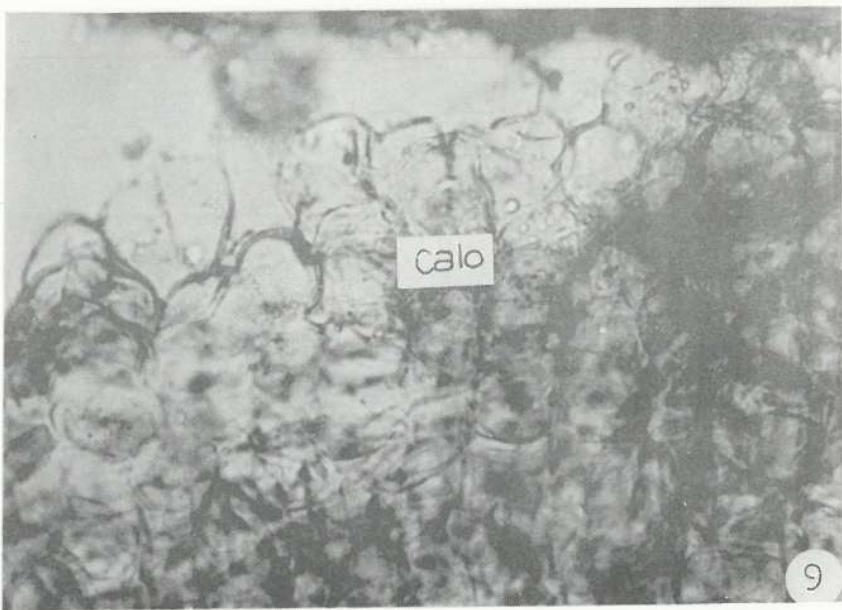




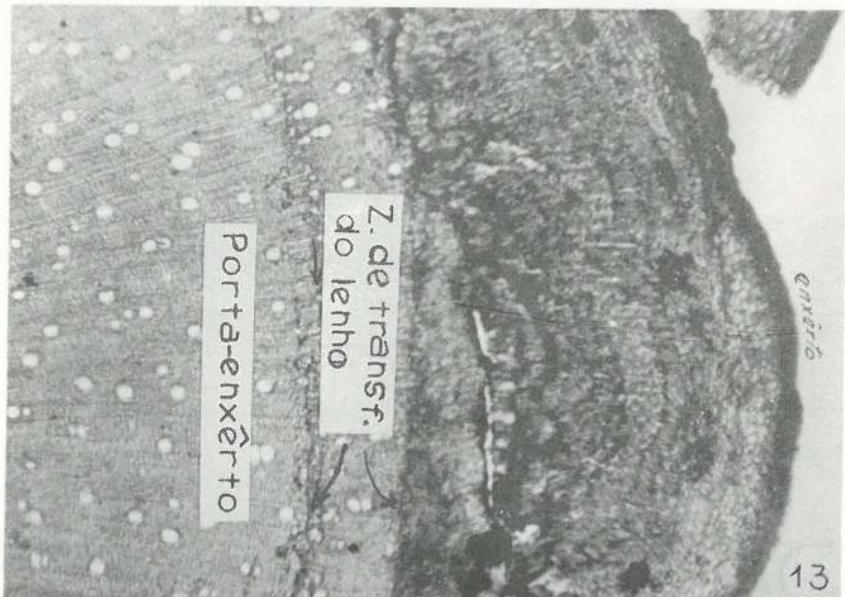
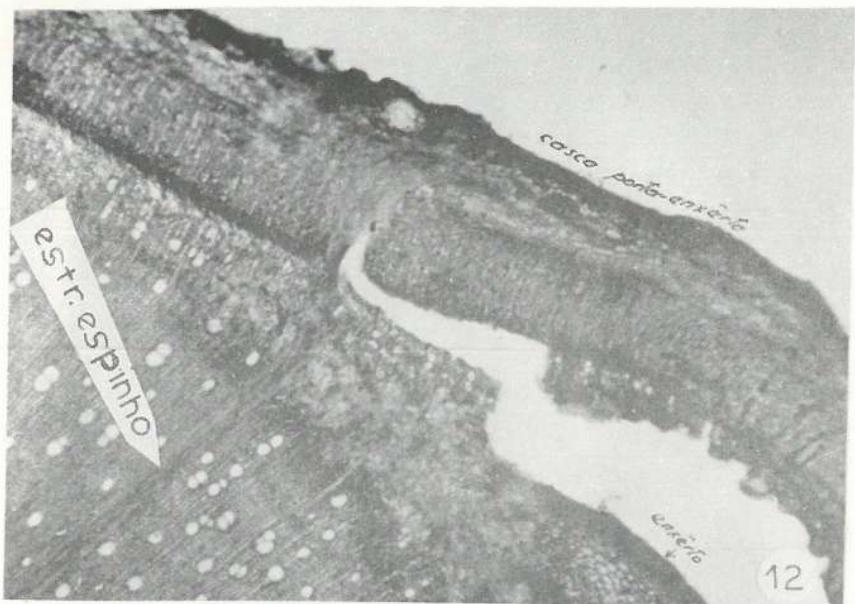


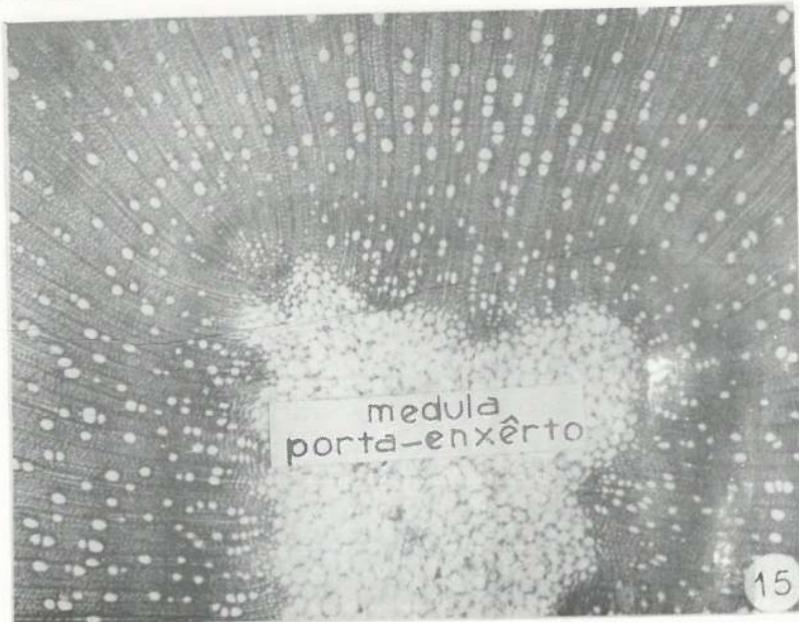
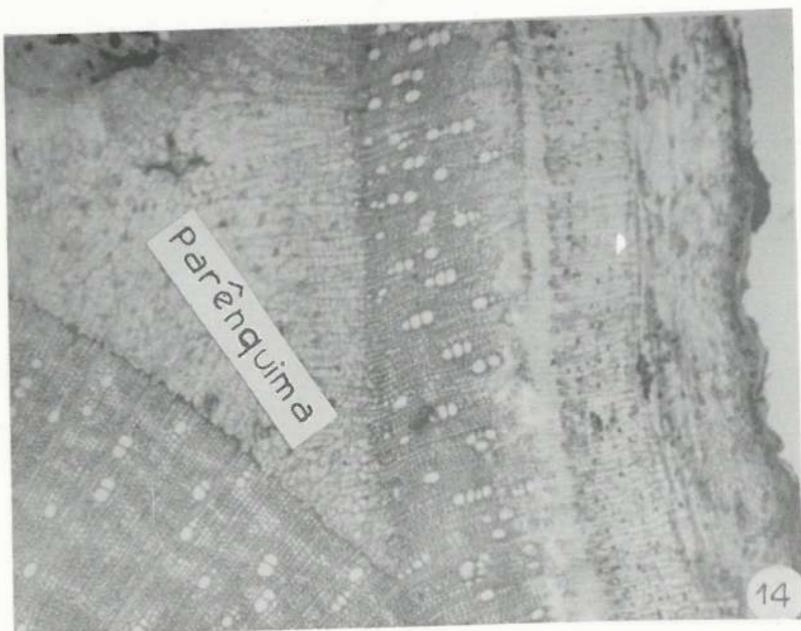


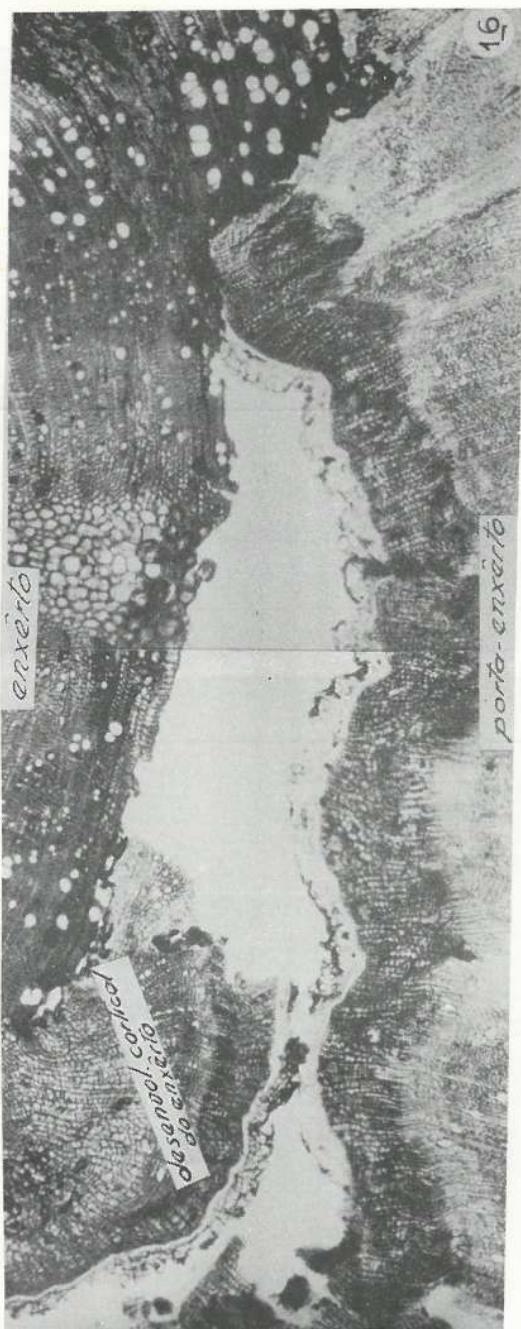


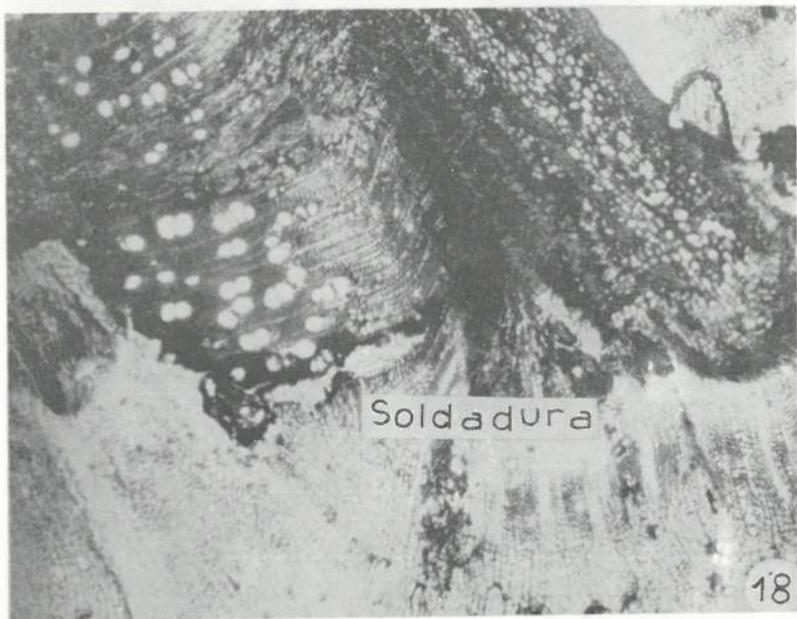
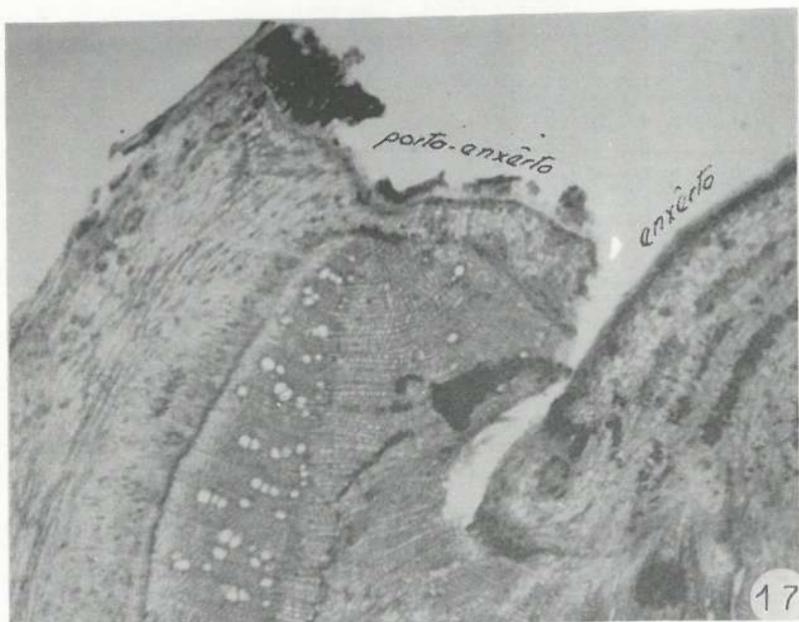


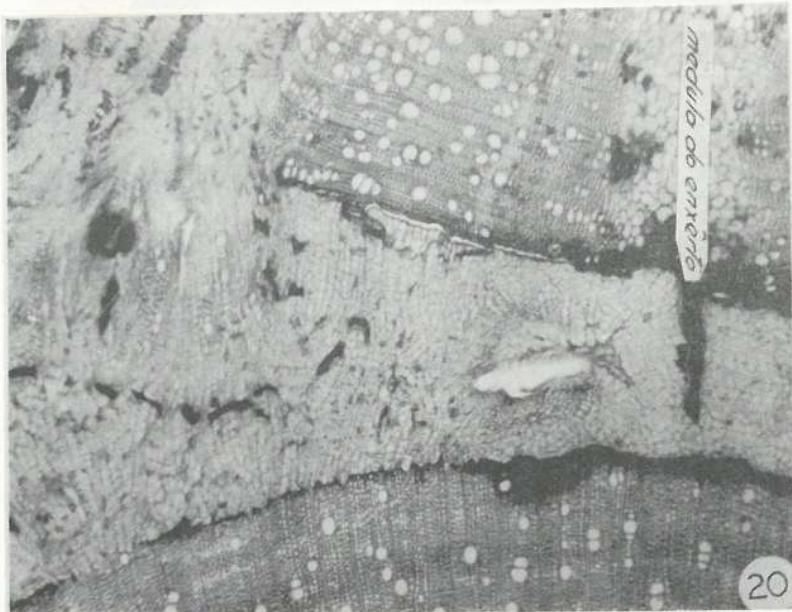
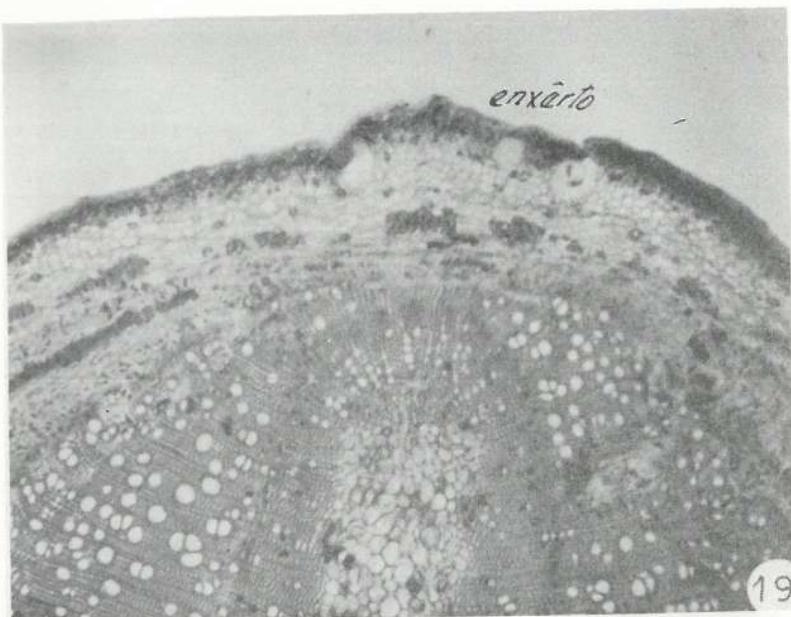


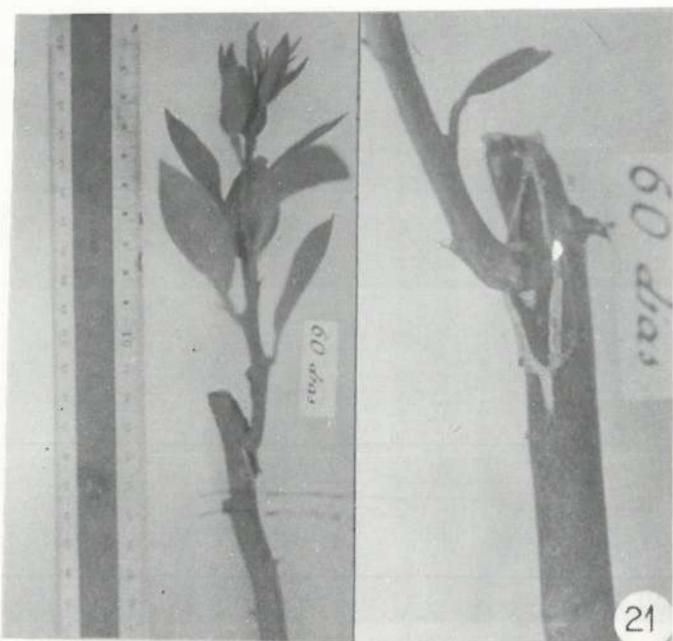




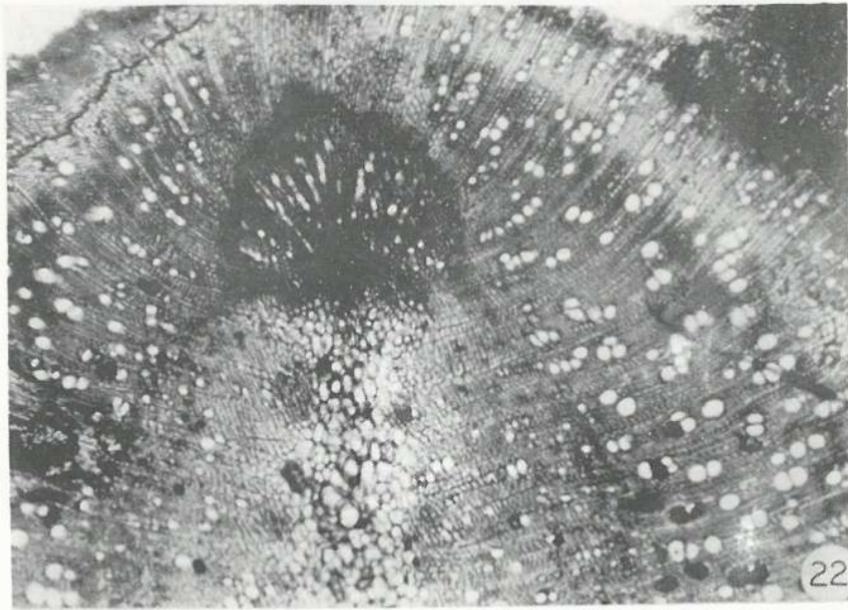




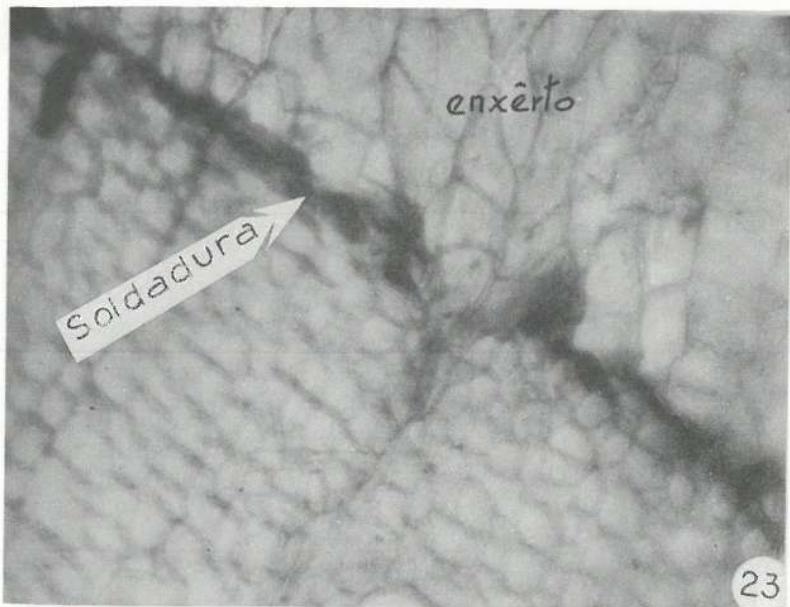




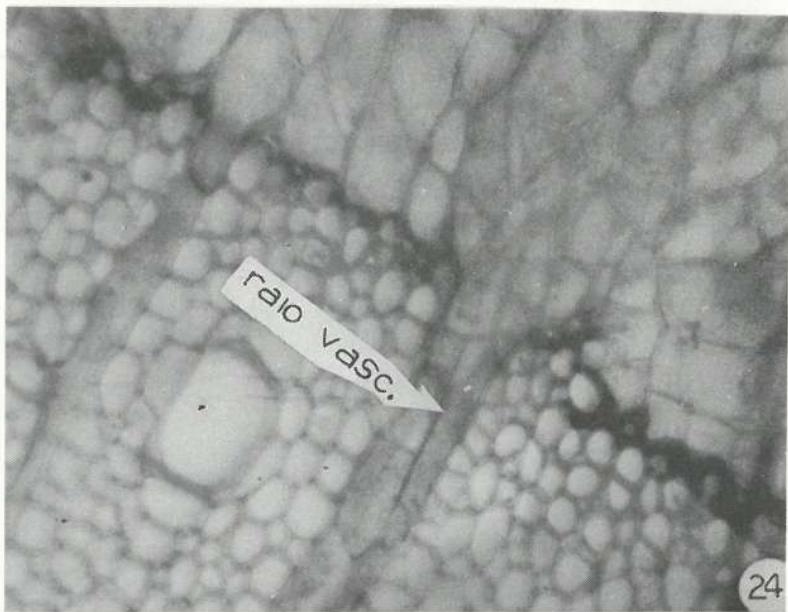
21



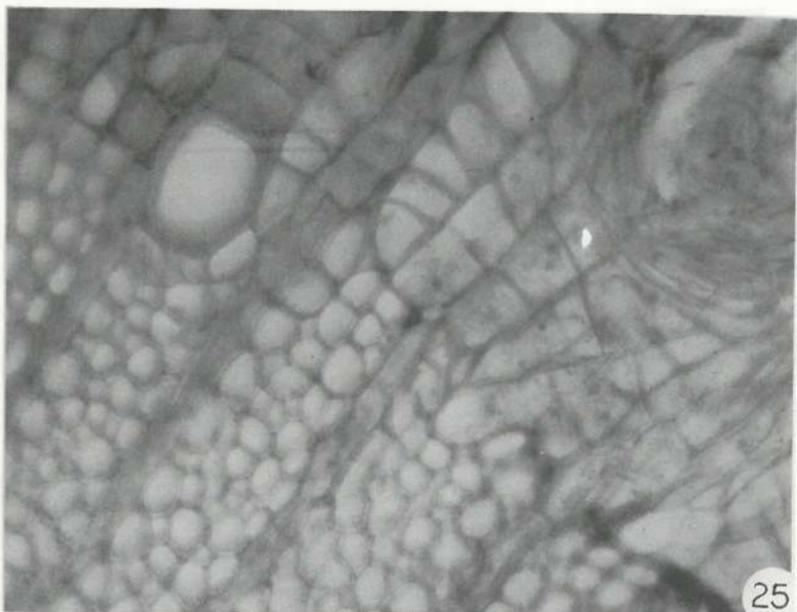
22



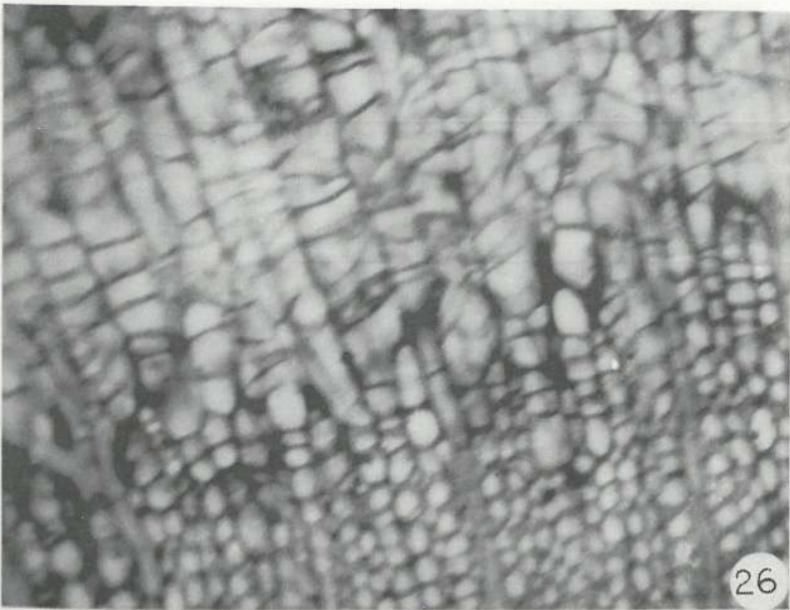
23



24



25



26