

Janeiro e Fevereiro de 1985

VOL. XXXII | N.º 179

Viçosa — Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

INFLUÊNCIA DA LUZ NO DESENVOLVIMENTO FOLIAR DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)^{1/}

Eldo Antonio Monteiro da Silva^{2/}
Charles Eugene Anderson^{3/}

1. INTRODUÇÃO

Plantas cultivadas em câmaras de crescimento guardam características ímpares, dependendo do ambiente selecionado. *Phaseolus vulgaris* L., cv. Bush Blue Lake 290, tem sido selecionado e utilizado como planta-modelo nos experimentos de «stress» do meio ambiente (8, 9, 11).

A mesma espécie, cultivada em diferentes densidades de fluxo luminoso e temperaturas, apresenta variações na estrutura foliar (7, 12, 15, 17). A diferenciação e a distribuição dos estômatos são altamente influenciadas pela densidade do fluxo luminoso (8). KNECHT e O'LEARY (8) afirmam que a densidade dos estômatos, em *P. vulgaris* L., aumentou com o crescimento da densidade do fluxo luminoso; entretanto, o número total de estômatos por folha permaneceu aproximadamente constante com diferentes níveis de luz. Isso indica que altos níveis de luz reduzem a expansão celular, mas não interferem no número de estômatos.

^{1/} Parte da tese apresentada à North Carolina State University, U.S.A., pelo primeiro autor, como um dos requisitos para a obtenção do grau de «Master of Science» em Botânica.

Recebido para publicação em 24-6-1983.

^{2/} Departamento de Biologia Vegetal da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

^{3/} Departamento of Botany, North Carolina State University, Raleigh, NC. 27650, USA.

Van VOLKENBURGH e DAVIES (16), trabalhando com algodão e soja, afirmaram que diferentes regimes de luz e temperatura influenciam a formação dos estômatos, bem como a expansão celular. Resultados semelhantes foram obtidos com outras espécies, conforme trabalhos publicados por MEINDNER e MANSFIELD (10), segundo os quais as diferenças em densidade de estômatos podem ser causadas pela influência do ambiente sobre as células. Diante disso, as condições de ambiente controlado podem ser úteis à elucidação das variações dos estômatos de determinada espécie.

TURREL (15) observou que a superfície foliar interna varia nas folhas mesomórficas, visto que, trabalhando com várias espécies, notou que o tecido paliçádico tinha maior área de exposição ao ar do que o tecido lacunoso. Posteriormente, usando luz artificial para as espécies *Nerium oleander* L., planta xeromórfica, e *Vinca rosea* L., planta mesomórfica, concluiu que a espessura foliar, a produção da superfície interna dos tecidos paliçádico e lacunoso e a concentração de clorofila aumentaram com níveis mais altos de luz artificial. Desde então, têm sido feitos estudos semelhantes, tentando detectar variações de estrutura foliar nas plantas cultivadas com diversos regimes de luz artificial e natural (4, 7, 9, 13, 15, 17).

Neste trabalho, descrevem-se as variações nas dimensões anatômicas e na resistência estomática e a frequência de estômatos e tricomas das folhas de feijão com quatro condições de luminosidade, com o propósito de avaliar os diferentes graus de susceptibilidade dos parâmetros estudados ao estresse do ambiente e a resposta física da planta a diferentes níveis de luz.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cv. Bush Blue Lake 290 (BBL 290), foram colocadas para germinar num substrato de 1/3 de esfagno e 2/3 de cascalho (pedra moída n.º 16), em copos de isopor com capacidade de 240 ml. As plântulas obtidas sete dias após o plantio foram transplantadas para vasos plásticos de 940 cm³, que continham o mesmo substrato. Quarenta e oito plantas foram divididas em quatro lotes de 12 unidades, cada lote colocado dentro de uma câmara de crescimento artificial, de propriedade do Fitotron da Universidade Estadual da Carolina do Norte, Raleigh, U.S.A. (3).

Cada uma das quatro câmaras foi regulada para temperatura de 26°C, durante o dia, e 22°C, durante a noite, com umidade relativa constante de 70% e fotoperíodo de nove horas. Cada lote recebeu, durante todo o experimento, uma das seguintes luminosidades: 9,8–18–27 e 36 Klux, fornecidas por um conjunto de lâmpadas fluorescentes e incandescentes.

Trinta e cinco dias após o transplante foi medida a resistência difusiva estomática (r_s), com um porômetro de difusão Lambda, modelo LI-60, de sensor horizontal, nas duas epidermes. O sensor foi colocado na porção mediana do folíolo central do terceiro trifólio. Desse mesmo trifólio foram tiradas amostras, para estudos anatômicos da porção basal, mediana e apical. As amostras foram fixadas em solução de formol-ácido acético e etanol a 50% (FAA) (5) e submetidas a vácuo durante 24 horas. Uma das amostras fixadas em FAA foi desidratada com o recurso de uma série alcoólica etílico-butilica terciária (5), incluída em «Paraplast» (parafina sintética) e seccionada, em espessura de 15 a 20 μ m, com o auxílio de um micrótomo rotatório (American Optical Company). As secções foram coloridas com safranina O e verde rápido FCF (5) e montadas em «Permout». As demais amostras foram diafanizadas com NaOH (1) e utilizadas na determinação da frequência de estômatos e tricomas.

Para a determinação da frequência e do índice de estômatos nas epidermes da porção apical, mediana e basal do folíolo central, utilizou-se um microscópio Wild,

com aumento de 200 x, e uma ocular quadriculada, com área de 0,00252 mm². Com o mesmo aumento e uma área de 0,05 mm² na ocular, determinou-se a frequência de tricomas. A medição da espessura dos tecidos paliçádico e lacunoso e da espessura total das folhas foi feita mediante corte transversal, com a utilização de uma ocular micrométrica. O índice estomático (Si) foi calculado com a utilização da seguinte fórmula (2):

$$Si\% = \frac{Sn}{Sn + En} \times 100, \text{ sendo } Sn \text{ o número de estômatos e } En \text{ o número de células da epiderme.}$$

las da epiderme.

A análise estatística desses incluiu análise de variância, análise de regressão e estudos de correlação. Um desenho ao acaso, com dez repetições, foi utilizado no experimento unifatorial (espessura foliar) e no experimento multifatorial (estômatos e tricomas).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A folha de feijão 'BBL 290' apresenta, como estrutura geral, epidermes superior e inferior formadas de uma única camada de células. O mesófilo consiste numa simples camada de tecido paliçádico, adjacente à epiderme superior, e três ou quatro camadas de células irregulares, que formam o tecido lacunoso. As dimensões dessa estrutura foliar são influenciadas pela luminosidade. Análises das amostras indicaram que a espessura foliar, a frequência de estômatos, o número de tricomas e a resistência estomática variam entre plantas cultivadas com diferentes tratamentos de luz.

Anatomicamente, o arranjo das células nos tecidos foi semelhante em todos os tratamentos. Análise estatística da variação da espessura foliar mostrou relação linear entre os níveis de luz e o tecido paliçádico ($r = 0,96$) o tecido lacunoso ($r = 0,82$) e a espessura total da folha ($r = 0,91$) (Figura 1; Quadro 1). Entretanto, foi encontrada relação quadrática entre a luz e a espessura das epidermes ($r = 0,98$) (Figura 2). Observando as médias de espessura, notou-se que as plantas cultivadas com 9,8 Klux tinham folhas menos espessas ($\bar{X} = 135,6 \mu\text{m}$) que as das cultivadas com outros tratamentos de luz (Quadro 1). As células do tecido paliçádico, com 9,8 Klux, foram relativamente menos desenvolvidas e compactas que as das folhas tratadas com 36 Klux, que atingiram $\bar{X} = 182,5 \mu\text{m}$, com tecido paliçádico bem desenvolvido. Folhas de plantas cultivadas com 18 e 27 Klux apresentaram mesófilo com desenvolvimento semelhante e espessura intermediária à dos outros tratamentos de luz. Aparentemente, há um crescimento da espessura foliar com o aumento da luminosidade. Tais resultados são semelhantes aos encontrados por HUGHES (4) com plantas da espécie *Impatiens parviflora* DC., que apresentaram folhas mais grossas quando cultivadas com altos níveis de luz. JURIK *et alii* (7) relataram que folhas de *Fragaria virginiana* Duch. são influenciadas por diferentes densidades do fluxo luminoso. Folhas de plantas cultivadas com uma densidade de fluxo luminoso, quando mudadas para uma iluminância mais baixa, apresentaram redução na espessura dos tecidos. JURIK *et alii* (7) concluíram também que a anatomia foliar e a fotossíntese aparente podem ser modificadas quando os regimes de luz são alterados durante o desenvolvimento foliar. Em feijão 'BBL 290', observaram-se diferentes graus de desenvolvimento dos diversos tecidos foliares quando as plantas foram cultivadas em câmaras de crescimento com quatro diferentes níveis de luz. O tratamento com maior iluminância produziu folhas

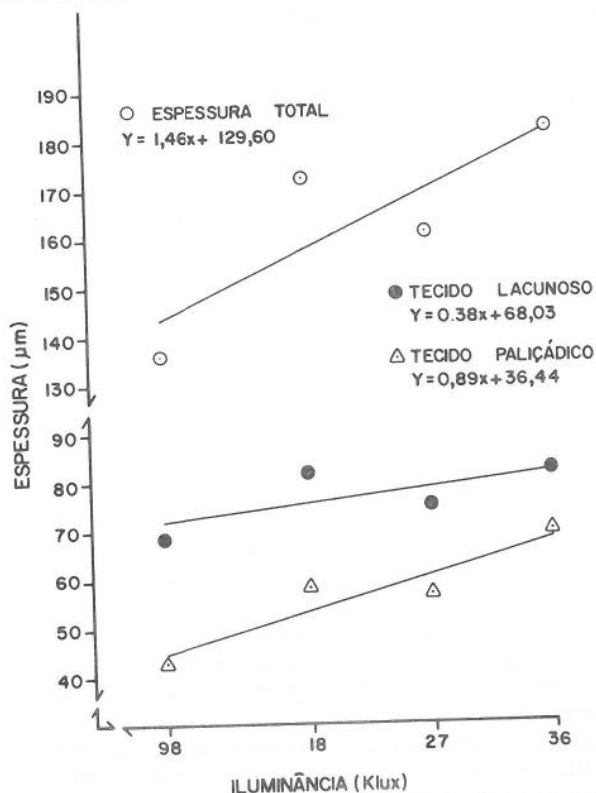


FIGURA 1 - Relação linear entre a iluminância e a espessura dos tecidos foliares

QUADRO 1 - Médias da espessura total e dos tecidos da folha de feijão 'Bush Blue Lake 290'

Luz (Klux)	Espessura total	Tecidos		
		Paliçádico	Lacunoso	Epidérmico
(µm)				
9,8	135,6*	42,8	68,8	24,0
18,0	172,1	58,0	81,3	32,8
27,0	161,0	57,7	75,1	30,2
36,0	182,5	69,5	82,5	30,5

* Médias de dez repetições.

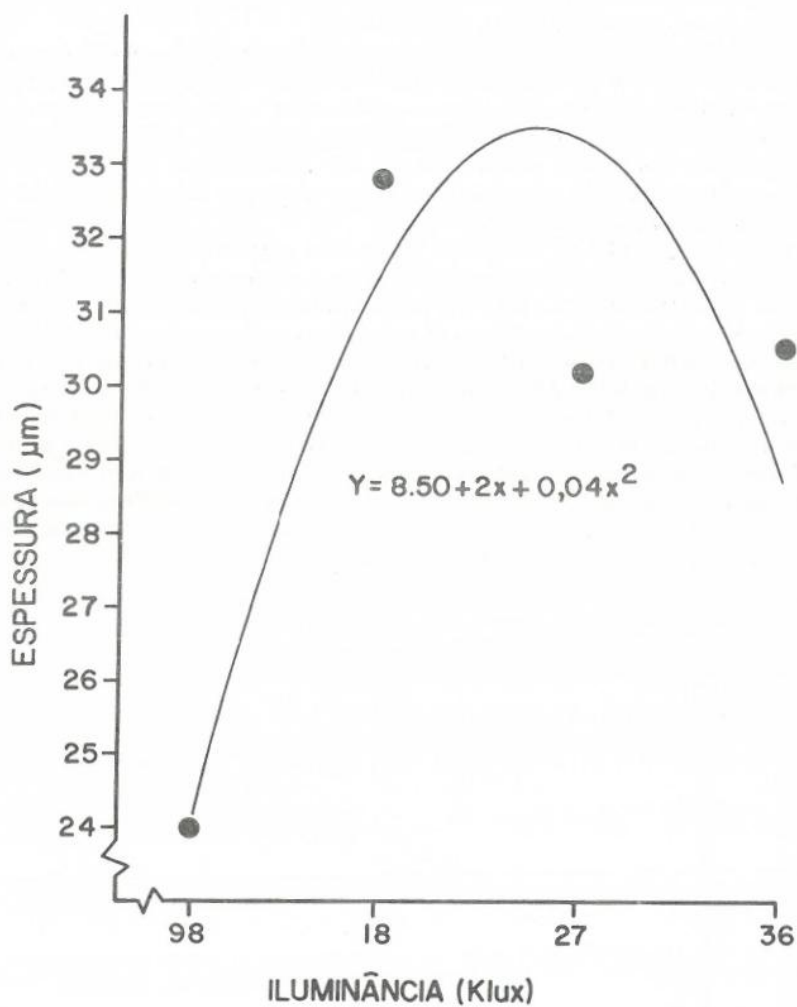


FIGURA 2 - Relação quadrática entre a iluminância e a espessura do tecido epidérmico

mais grossas e com mesófilo bem desenvolvido, ao passo que o tratamento com menor iluminância produziu folhas mais finas, tecido paliçádico formado por células pequenas e tecido lacunoso com menores espaços intercelulares. O tecido paliçádico foi o mais influenciado pelas diferentes intensidades de luz. Comparando as médias da espessura dos tecidos das folhas de feijão 'BBL 290', é possível verificar que o tecido paliçádico sofreu maior variação.

A análise de regressão indicou correlação linear positiva ($r = 0,83$) entre a frequência de estômatos na epiderme inferior e as quatro intensidades de luz (Figura 3). Para a epiderme superior, foi baixa a correlação ($r = 0,32$) entre a frequência de estômatos e a intensidade luminosa (Quadro 2).

As médias dos índices estomáticos (S_i) não apresentaram diferenças na epiderme superior. Contudo, na epiderme inferior, maiores S_i foram observados com as mais altas iluminâncias (Quadro 2).

As médias dos S_i e da frequência estomática sugerem que a luz não influenciou a diferenciação de estômatos, mas alterou a expansão das células da epiderme. Van VOLKENBURGH e DAVIES (16), trabalhando com algodão e soja, afirmaram que as diferenças de frequência de estômatos resultaram da influência do ambiente sobre a diferenciação dos estômatos, bem como sobre a expansão celular. Estudos anteriores sobre a frequência de estômatos em *P. vulgaris* L. mostraram que a densidade do fluxo de luz causou efeito sobre a expansão foliar, mas não sobre a formação de estômatos (8). A frequência de estômatos em folhas de feijão 'BBL 290', cultivadas com quatro diferentes níveis de luz, aumentou com o incremento da iluminância. Entretanto, não houve grandes variações de S_i com os diferentes níveis de luz, sugerindo que a iluminância exerceu maior influência sobre a expansão celular que sobre a diferenciação de estômatos.

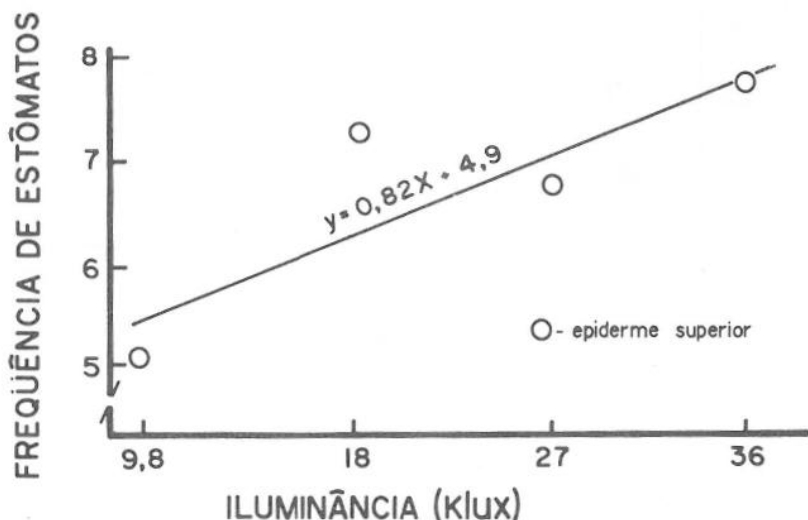


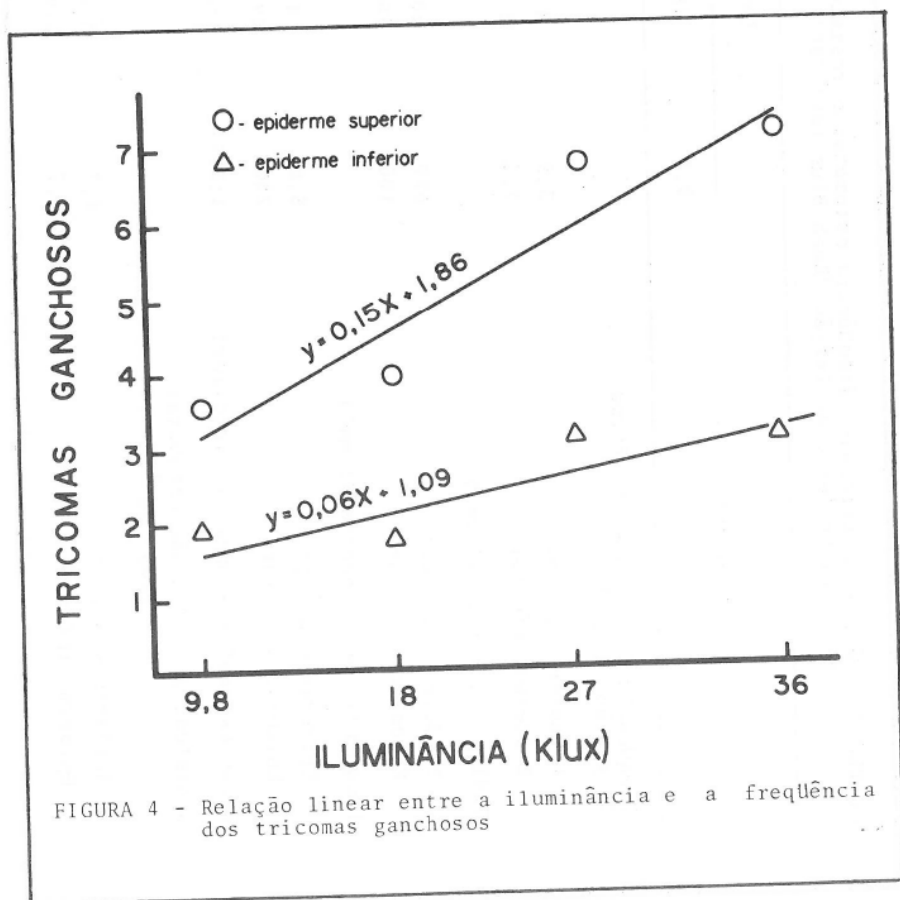
FIGURA 3 - Relação linear entre a iluminância e a frequência estomatal na epiderme inferior.

QUADRO 2 - Médias de tricomas, frequência estomatal e resistência de difusão estomatal para o terceiro trifólio de feijão 'Bush Blue Lake 290'.

Parâmetros	Intensidade de luz (Klux)			
	9,8	18	27	36
Frequência de tricomas em forma de gancho (1 mm^2)				
Epiderme superior	3,9	3,6	6,2	6,6
Epiderme inferior	7,2	8,0	13,8	14,4
Índice estomático (1 mm^2)				
Epiderme superior	680	600	600	680
Epiderme inferior	1000	1000	1160	1280
Frequência de estômatos (1 mm^2)				
Epiderme superior	5,6	48	68	56
Epiderme inferior	280	292	272	312
Razão estomatal (Superior: inferior)	1:3,7	1:6,0	1:4,8	1:4,6
Resistência de difusão estomatal (seg. cm^{-1})				
Epiderme superior	4,7	3,7	3,2	2,3
Epiderme inferior	1,7	1,6	1,7	1,4

Em plantas da mesma espécie, as folhas cultivadas ao sol geralmente têm mais tricomas que as desenvolvidas na sombra (2). No feijão 'BBL 290', tricomas em forma de gancho, por causa da sua distribuição uniforme nas duas epidermes, foram escolhidos para a avaliação da frequência. Examinando os folíolos individualmente, observou-se que não houve variação na frequência de tricomas nas regiões apical e basal, mas, na região basal da folha, houve um aumento do número de tricomas na epiderme inferior. A análise mostrou uma relação linear entre os tricomas da epiderme inferior ($r = 0,97$) e os quatro tratamentos de luz. O número desses apêndices também cresceu com o aumento da luminosidade. Observou-se relação semelhante na epiderme superior da folha ($r = 0,95$) (Figura 4; Quadro 2). O aumento da frequência nas concentrações de luz mais altas não implicou mudança no padrão de diferenciação, visto que as células e as folhas foram também menores. Entretanto, se os tricomas estão envolvidos em maior ou menor transpiração, como sugeriram SOROKIN e THIMANN (14), então a variação da frequência poderia ter implicações fisiológicas.

As diferenças observadas na distribuição dos estômatos nas epidermes refletiram-se na resistência estomática (r_s) das folhas desenvolvidas com cada um dos quatro tratamentos de luz, pois, quanto maior for a frequência estomatal, menor será a resistência interna da folha (11). A resistência à difusão de gases através dos



estômatos teve relações lineares com as epidermes superior ($r = 0,89$) e inferior ($r = 0,87$) (Figura 5), e as maiores r_s foram encontradas na epiderme superior. Essa diferença em r_s deve-se à menor frequência estomática na epiderme superior (Quadro 2). Resultados idênticos foram obtidos com plantas de algodão e soja, quando cultivadas com diferentes níveis de temperatura e luz (6, 16).

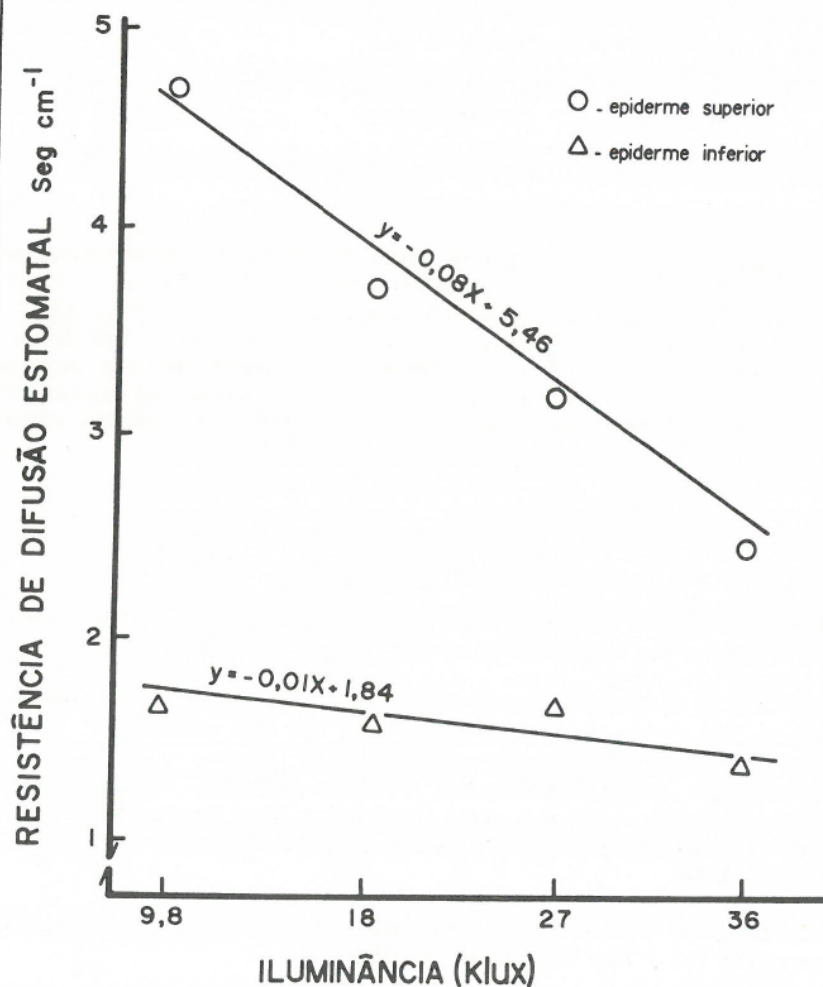


FIGURA 5 - Relação linear entre a iluminância e a resistência à difusão estomatal

4. RESUMO

A variação na anatomia das folhas de feijão, cv. Bush Blue Lake 290, desenvolvidas em câmaras de crescimento com diferentes níveis de luz (9,8- 18-27 e 36 Klux), foi caracterizada por um aumento da espessura foliar, de acordo com a luminosidade. Folhas cultivadas com 9,8 e 18 Klux apresentaram espaços intercelulares maiores que os das cultivadas com 27 e 36 Klux. Tricomas em forma de gancho foram mais freqüentes com níveis de luz mais altos. O número de estômatos aumentou com o incremento da luminosidade, porém a maior freqüência foi observada nos tratamentos com 27 e 36 Klux. A resistência à difusão estomática (r_s) foi maior na epiderme inferior, e em ambas observou-se aumento da r_s como resultado do decréscimo da intensidade de luz.

5. SUMMARY

(THE INFLUENCE OF LIGHT ON LEAF DEVELOPMENT OF BEAN
(*Phaseolus vulgaris* L.))

Leaf anatomy variation, in plants grown at 9.8, 18, 27, and 36 Klux, is characterized by increased leaf thickness with increase in light. Leaves grown at lower light intensities have larger intercellular spaces than leaves grown at higher light treatments. Hooked trichomes were more frequent at highest light levels. Stomata frequency increased at the highest light intensity but the highest frequency was observed at 27 Klux. Stomatal diffusion resistance (r_s) was greater on the upper surface than on the lower; and, on both surfaces, r_s increased with a decrease in light intensity.

6. LITERATURA CITADA

1. BERLYN, G.P. & MIKSCH, J.P. *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. Ames, The Iowa State University Press, 1976. 326 p.
2. CUTTER, E.G. *Plant Anatomy: Experiment and Interpretation*. Part 2: Organs. San Francisco, Addison-Wesley Publ. Co., 1971. p.177-179.
3. DOWNS, R.J. & BONAMINIO, V.P. *Phytotron procedural manual for controlled-environment research at the Southeastern Plant Environmental Laboratories*. Raleigh, North Carolina Agricultural Experiment Station, 1976. 35 p. Tech. Bul. 244.
4. HUGHES, A.P. Effects of the environment on leaf development in *Impatiens parviflora* DC. *J. Exp. Bot.* 14:316-325. 1959.
5. JOHANSEN, D.A. *Plant Microtechnique*. N. York, MacGraw-Hill Publ., 1940. p. 27-165.
6. JORDAN, W.R. & RICHIE, J.T. Influence of soil water stress on evaporation, root absorption and internal water status of cotton. *Plant Physiol.* 48:783-788. 1971.

7. JURIK, T.W.; CHABOT, J.F. & CHABOT, B.F. Ontogeny of photosynthetic performance in *Fragaria virginiana* under changing light regimes. *Plant Physiol.* 63:542-547. 1979.
8. KNECHT, G.N. & O'LEARY, J.W. The effect of light intensity on stomatal density of *Phaseolus vulgaris* leaves. *Bot. Gaz.* 133:132-134. 1972.
9. LOUWERSE, W. & ZWEERDE, W. Photosynthesis, transpiration and leaf morphology of *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays* at different irradiances in artificial light. *Photosynthetica* 11:11-21. 1977.
10. MEINDNER, H. & MANSFIELD, T.A. *The Physiology of Stomata*. New York, McGraw-Hill Publ. Co., 1968. p. 75-80.
11. NOGGLE, G.R. & FRITZ, G.J. *Introductory Plant Physiology*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, Inc., 1976. p. 287-510.
12. OJEHOMON, O.O.; RATHJEN, A.J. & MORGAN, D.C. Effects of daylength on the morphology and varieties of five determinate varieties of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Agric. Sci.* 71:209-214. 1968.
13. RAJAN, A.K. & BLACKMANN, G.E. Interacting effects of light and day and night temperatures on the growth of four species in the vegetative phase. *Ann. Bot.* 39:733-743. 1975.
14. SOROKIN, H.P. & THIMANN, K.V. The histological basis of axillary buds in *Pisum sativum* and the effects of auxins and kinetin on xylem development. *Protoplasma* 59:326-350. 1964.
15. TURREL, F.M. The relation between chlorophyll concentration and the internal surface of mesomorphic and xeromorphic leaves grown under artificial light. *Iowa Acad. Sci.* 46:107-117. 1939.
16. Van VOLKENBURGH, E. & DAVIES, W.J. Leaf anatomy and water relations of plants grown in controlled environments and in the field. *Crop Sci.* 17:353-358. 1977.
17. WYLIE, R.B. Principles of foliar organization shown by sunshade leaves from ten species of deciduous dicotyledoneous trees. *Am. J. Bot.* 38:355-361. 1951.