INFLUÊNCIA DO SOMBREAMENTO CAUSADO PELO MILHO NA ANATOMIA DA FOLHA DE FEIJOEIRO DE DIFERENTES HÁBITOS DE CRESCIMENTO.

II. MESOFILO[1]

HELOÍSA TORRES DA SILVA[2], JOÃO DOMINGOS RODRIGUES[3] e JOAQUIM GERALDO CÁPRIO DA COSTA[4]

RESUMO - Foram estudadas a organização e a espessura do mesofilo e a área do folíolo em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) de hábito de crescimento determinado (cv. Canário 101) e indeterminado (cvs. Rio Tibagi e Costa Rica 1031), sob influência do sombreamento pelo milho, de acordo com os sistemas de cultivo: feijoeiro com milho seco cortado a 10 cm do solo, dobrado à altura da primeira espiga e mantido em pé. Foram feitas avaliações no folíolo central da terceira folha trifoliolada, e, em seções transversais da região mediana da lâmina foliar. Medidas da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foram tomadas, semanalmente, em diferentes níveis de altura das plantas. Os sistemas de cultivo com milho seco dobrado e em pé, juntamente com o sombreamento intra e entre plantas de feijoeiro, reduziram a disponibilidade total de radiação. A disposição dos tecidos constituintes do mesofilo, parênquimas paliçádico e lacunoso não foi influenciada pela radiação disponível resultante dos sistemas de cultivo utilizados, que influenciou, no entanto, a espessura desses tecidos e da lâmina foliar, promovendo a sua expansão celular. O parênquima lacunoso foi mais afetado pelas quantidades de radiação do que o parênquima paliçádico. O sombreamento induziu aumento da área do folíolo.

Termos para indexação: parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, espessura, área do folíolo, radiação fotossinteticamente ativa (RFA), sistemas de cultivo.

INFLUENCE OF THE SHADING CAUSED BY THE MAIZE PLANTS ON THE ANATOMY OF THE BEAN LEAF OF DIFFERENT GROWTH HABITS. II. MESOPHYLL

ABSTRACT - The arrangement and thickness of the leaf mesophyll and leaflet area were studied in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars with determinate (Canário 101) and indeterminate (Rio Tibagi and Costa Rica 1031) growth habit, grown under different light intensities determined by shading by maize plants. The cropping systems were: dried plants of maize cut at 10 cm from the soil surface, plants doubled over below the first ear and upright plants. The evaluations were made on the central leaflet of the third trifoliolate leaf at the median region. Measurements of photosynthetically active radiation (PAR) were taken weekly at different plant heights. The cropping systems with doubled over and upright maize plants, allied to intra and inter shading among bean plants caused a decrease in the total radiation. The arrangement of the palisade and spongy parenchyma in the leaf mesophyll was not influenced by the available radiation, bu the thickness of those tissues and the leaf blade were influenced, leading to cell expansion of the structures. The spongy parenchyma was more influenced by the amount of radiation than the palisade parenchyma. The shading induced an increase in area of the leaflet.

Index terms: palisade parenchyma, spongy parenchyma, thickness, leaflet area, photosynthetically active radiation (PAR), cropping systems.

INTRODUÇÃO

A estrutura da folha influencia as relações de água e outros processos fisiológicos das plantas e é modificada pelas mudanças nos fatores do ambiente.

A intensidade luminosa tem profunda influência na estrutura final das folhas, resultando nas chamadas folhas de sol e de sombra (Cutter 1971).

[1] Aceito para publicação em 14 de julho de 1988. Parte da Tese apresentada pela autora à UNESP/Campus de Botucatu, SP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de Botânica.

[2] Bióloga, M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), Caixa Postal 179, CEP 74000 Goiânia, GO.

[3] Eng. - Agr., Ph.D., Prof. - Titular, Dep. de Bot. do IBBMA/UNESP/Campus de Botucatu, CEP 18610 Botucatu, SP.

[4] Eng. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/CNPAF.

As diferenças estruturais entre essas folhas são mais claramente desenvolvidas como resposta plástica das plantas à variação da intensidade luminosa entre folhas de diferentes posições na mesma planta (Lewis 1972). Crookston et al. (1975) constataram, em dois tipos de feijoeiro, arbustivo e semi-trepador, que houve um decréscimo na espessura foliar com o decréscimo da intensidade luminosa nas regiões mais inferiores do dossel das plantas.

Os efeitos da alta luminosidade na anatomia foliar determinam, em geral, o aumento das camadas organizadas do tecido paliçádico e da capacidade fotossintetizante do tecido, promovendo um sistema bem desenvolvido de espaços intercelulares que facilita o intercâmbio gasoso.

Órgão vegetal é um tecido organizado que se desenvolve ordenadamente a partir da divisão celular, seguida do alongamento ou expansão e da diferenciação celular, com certo grau limitado de sobreposição entre essas fases (Thomson 1954). A duração das fases de divisão e expansão celular difere entre as espécies e entre as folhas de uma mesma planta, segundo Ashby & Wangermann (1950), citados por Humphries & Wheeler (1960).

A luz e a temperatura podem afetar a divisão e a expansão celular do primórdio foliar (Cutter 1971). E, segundo Thomson (1954), a resposta dos tecidos vegetais à luz pode ser interpretada como a aceleração de qualquer processo de desenvolvimento em andamento, durante e imediatamente após a ação do estímulo luminoso. Observações feitas sobre diferentes espécies vegetais confirmaram que a luz aumenta a divisão e a expansão celular (Morton & Watson 1948, Humphries & Wheeler 1960, Dale & Murray 1968, Butter 1963, citados por Verbelen & De Greef 1979).

A luz e a temperatura, atuando sobre a divisão e a expansão celular, afetam, conseqüentemente, o tamanho e a área da folha. Folhas expostas a altos níveis de radiação têm área menor (Knecht & O'Leary 1972, Lewis 1972, Cutter 1971, Ciha & Brun 1975); e ao sombreamento, área maior (Dale 1965 e Segovia & Brown 1978, citados por Burga Mendonza 1978, Lopes et al. 1982 e Kappell & Flore 1983). No entanto, sob condições extremas de sombreamento, a área foliar dos folíolos de *Vicia americana,* uma leguminosa, foi menor do que a dos folíolos de sol, alcançando somente 20% a 25% da área total desses folíolos (Cormack 1955).

Neste trabalho, procurou-se verificar a organização e a espessura do mesofilo e a área do folíolo em cultivares de feijão de hábito de crescimento determinado e indeterminado, sob influência do sombreamento provocado pelo milho, de acordo com os sistemas de cultivo utilizados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados o mesmo material e os mesmos métodos que no trabalho I (Silva et al. 1988, com algumas modificações. Para as avaliações anatômicas foram coletados cinco folíolos centrais da terceira folha trifoliolada distendida, de plantas sob competição, nos três sistemas de cultivo, e em três repetições. De cada folíolo amostrado, foram tomadas seções da região mediana da lâmina foliar entre a nervura central e o bordo, que foram fixadas em FAA (Formalin - acetic - alcohol) a 50% (Johansen 1940) e em álcool etílico a 70% (Jensen 1962). Posteriormente, foram preparadas lâminas semipermanentes contendo cortes histológicos transversais feitos à mão livre e corados com azul de metileno a 0,06%. Foi selecionado um corte de cada folíolo para as observações e fotomicrografias da estrutura interna da lâmina foliar.

Para as medidas da espessura, desenhou-se o contorno da lâmina foliar com auxílio da câmara clara, e, utilizando-se uma ocular milimétrica adaptada ao microscópio, foram feitas cinco medidas da sua espessura, em seções compreendidas entre os feixes vasculares maiores (Fisher & Every 1982), as quais foram expressas em μm. Também foram feitas cinco medidas da espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso, tecidos constituintes da lâmina foliar.

A área foi medida e expressa em cm^2, em dez folíolos centrais da terceira folha trifoliolada, e em cinco repetições, com um integrador de área foliar modelo L.T. 3.000 (LI-COR, INC.).

A análise de variância dos valores médios calculados foi feita de acordo com o delineamento experimental utilizado no experimento, ou seja, de parcelas subdivididas, com cinco repetições e nove tratamentos, no qual as parcelas principais eram constituídas pelos hábitos de crescimento das plantas, e as subparcelas, pelos sistemas de cultivo: feijoeiro com milho seco cortado, dobrado e em pé, variando, porém, o número de repetições para as avaliações anatômicas, que foram três. As comparações de médias foram feitas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes aos sistemas de cultivo e a disponibilidade de radiação fotossinteticamente

ativa (RFA) foram discutidos no trabalho I (Silva et al. 1988).

O mesofilo é dorsiventral, sendo o parênquima paliçádico constituído por uma camada de células normalmente mais alongadas e com poucos espaços intercelulares, enquanto o lacunoso exibe células irregulares quanto à forma e disposição, tamanho variado, grandes espaços intercelulares e menor quantidade de cloroplastos. Células coletoras, de forma e tamanho variados (Sousa 1976) contactam as células do parênquima paliçádico com as do lacunoso (Fig. 1).

As médias da espessura total da lâmina foliar, parênquima paliçádico e lacunoso das folhas de feijoeiro das cvs. CR 1031, RT e C 101, analisadas, conjuntamente, nos três sistemas de cultivo, estão na Tabela 1. A cv. CR 1031 diferiu significativamente das demais cultivares, apresentando as maiores médias de espessura, ao passo que 'RT' e 'C 101' não diferiram significativamente. Charles-Edwards et al. (1974), estudando populações de azevém (*Lolium perenne* L.) em ambientes com temperatura e intensidade luminosa diferentes, observaram que diferenças na espessura da lâmina foliar estavam mais associadas com as variações no tamanho das células do mesofilo do que com as variações no número de células desta região. No presente trabalho, não foi medido o tamanho das células do mesofilo, mas, sim, a espessura dos tecidos que o compõem, os parênquimas paliçádico e lacunoso, e os resultados indicam que há uma relação entre a espessura destes tecidos e a espessura da lâmina foliar, evidenciada principalmente na cv. CR 1031 (Tabela 1). Estes resultados concordam com os de Charles-Edwards et al. (1974) e, em parte, com os de Cooper & Qualls (1967), que afirmam que a espessura da lâmina foliar parece estar relacionada com um número e tamanho maior das células do mesofilo.

Nas três cultivares e nos três sistemas de cultivo, a disposição dos tecidos constituintes do mesofilo foi semelhante, e o número de camadas de células permaneceu constante. Silva (1979) também observou que em quatro tratamentos diferentes de luz, o arranjo dos tecidos do mesofilo do feijoeiro foi sempre semelhante. A espessura da lâmina foliar, porém, variou com as diferentes intensidades de luz provocadas pelos sistemas (Fig. 2).

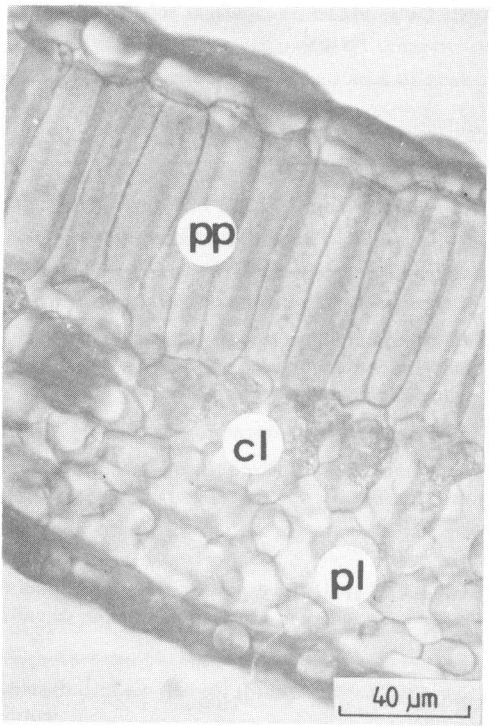

FIG. 1. Seção transversal da lâmina foliar de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.):
pp - parênquima paliçádico
pl - parênquima lacunoso
cl - célula coletora.

As maiores médias de espessura da lâmina foliar e dos parênquimas paliçádico e lacunoso ocorreram no sistema 1 (Tabela 2), embora algumas destas variáveis não tenham diferido significativamente de um sistema para outro. Isto confirma, no entanto, que a luz aumenta a divisão e a expansão celular nos órgãos vegetais (Thomson 1954, Butler 1963, Cutter 1971, Verbelen & De Greef 1979), confirmando, também, os resultados encontrados por Crookston et al. (1975) e Silva (1979) em folhas de feijoeiro; Volkenburgh & Davies (1977) em folhas de soja e algodão, e Cooper & Qualls (1967) em folhas de alfafa e trevo.

As menores médias de espessura destas estruturas anatômicas ocorreram nos sistemas sombreados 2 e 3, que, no entanto, não diferiram significativamente. Lopes et al. (1982) também constataram

TABELA 1. Média da espessura total (μm) da lâmina foliar e dos parênquimas paliçádico e lacunoso das folhas de feijoeiro[1].

Cultivar	Tipo[2]	Lâmina foliar	Parênquima paliçádico	Parênquima lacunoso
Costa Rica 1031	IV	170,6a[3]	67,7a	69,7a
Rio Tibagi	II	146,0b	57,3b	59,6ab
Canário 101	I	145,4b	59,4b	56,6b

[1] Considerando os sistemas de cultivo:

- feijoeiro com milho seco cortado a 10 cm do solo.
- feijoeiro com milho seco dobrado à altura da primeira espiga.
- feijoeiro com milho seco em pé.

[2] Hábito de crescimento, segundo o CIAT 1981.

[3] As médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, segundo o teste de Tukey.

TABELA 2. Média da espessura (μm) da lâmina foliar, parênquimas paliçádico e lacunoso das folhas de cultivares de feijão, nos diferentes sistemas de cultivo.

Cultivar	Tipo[1]	Sistema de cultivo[2]	Lâmina foliar	Parênquima paliçádico	Parênquima lacunoso
		1	187,0a[3]	70,5a	78,5a
Costa Rica 1031	IV	2	167,8ab	68,2a	67,7ab
		3	157,0b	64,3a	62,9b
		1	161,2a	61,0a	69,0a
Rio Tibagi	II	2	138,1b	53,6a	55,0b
		3	138,8b	57,2a	54,4b
		1	159,5a	66,8a	63,7a
Canário 101	I	2	137,4b	53,8b	52,6a
		3	139,4ab	57,5ab	53,4a

[1] Hábito de crescimento, segundo o CIAT 1981.

[2] Sistemas de cultivo:

1 - feijoeiro com milho seco cortado a 10 cm do solo.
2 - feijoeiro com milho seco dobrado à altura da primeira espiga.
3 - feijoeiro com milho seco em pé.

[3] As médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, segundo o teste de Tukey.

que as folhas da cultivar de feijão Negrito 897 (tipo II), cultivadas sob níveis de sombreamento de 38% e 70% da radiação solar, foram mais finas.

Considerando o sombreamento a que as plantas foram submetidas e o estádio de desenvolvimento das folhas quando coletadas, o parênquima lacunoso foi mais afetado do que o paliçádico pelas diferentes quantidades de radiação, ao contrário do observado por Silva (1979).

Em relação à área do folíolo e os diferentes sistemas de cultivo, somente a cv. C 101 apresentou médias significativamente diferentes (Tabela 3). Entretanto, pode-se observar que as maiores médias ocorreram nos sistemas sombreados 2 e 3,

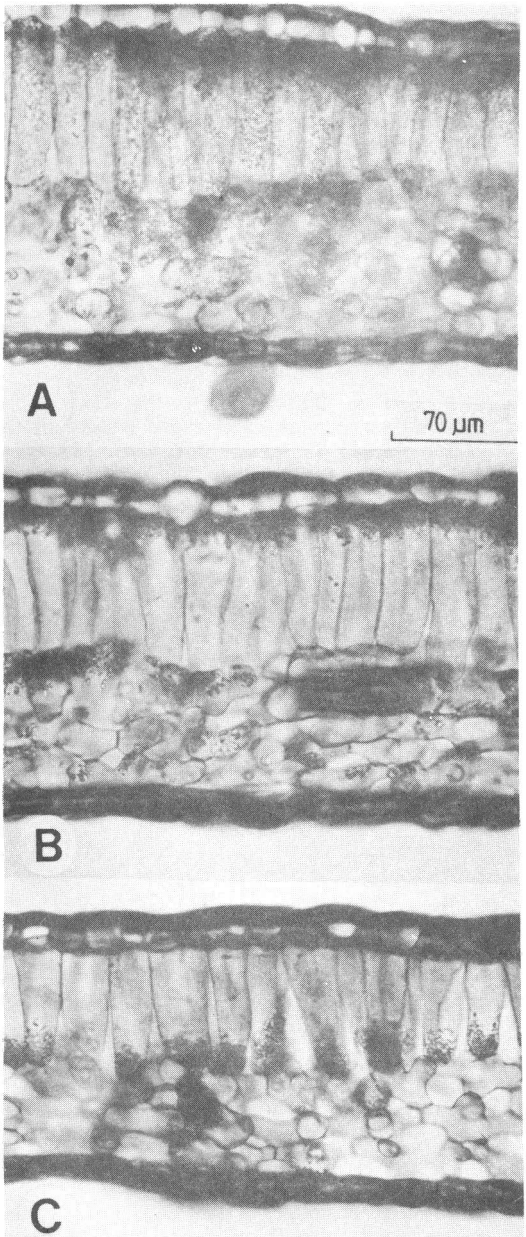

FIG. 2. Seções transversais da região mediana do folíolo central da folha de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Rio Tibagi, em diferentes sistemas de cultivo:

(A) feijoeiro com milho seco cortado a 10 cm do solo.
(B) feijoeiro com milho seco dobrado à altura da primeira espiga.
(C) feijoeiro com milho seco em pé.

que não diferiram significativamente nas três cultivares, e as menores, no sistema 1, exceto na cv. CR 1031. Apesar de não ter havido diferença significativa entre os sistemas, exceto na cv. C 101, pode-se constatar que sob radiação mais alta a área é menor, como afirmam Cutter 1971, Knecht & O'Leary 1972, Lewis 1972, Ciha & Brun 1975, ao passo que, sob sombreamento, é maior (Butler 1959, citado por Butler 1963, Cooper & Qualls 1967, Lopes et al. 1982, Kappel & Flore 1983). Lopes et al. (1982) mostraram que a redução da densidade do fluxo luminoso promove maior expansão foliar, evidenciando que o feijoeiro adapta-se a baixos níveis de luz, expandindo a superfície da folha a fim de captar com maior eficiência a luz disponível. Sob sombreamento, a planta necessita aumentar a área foliar para absorver mais luz, logo, ocorre divisão e expansão celular isoladamente ou em conjunto. Comparando-se as médias da área do folíolo (Tabela 3) com as médias da espessura dos tecidos foliares, sob as mesmas condições de sombreamento (Tabela 2), constata-se que estas foram reduzidas, sugerindo que não deve ter havido divisão e/ou expansão celular no sentido da espessura, divisões periclinais, e sim, no sentido do comprimento, divisões anticlinais (Esau 1982), promovendo, pois, uma área maior.

TABELA 3. Média da área (cm^2) do folíolo central da terceira folha trifoliolada das plantas de cultivares de feijão, nos diferentes sistemas de cultivo[1].

Cultivar / Sistema	Costa Rica 1031	Rio Tibagi	Canário 101
1	47,4a[2]	40,5a	45,2b
2	46,3a	43,3a	55,9a
3	49,5a	42,8a	51,9ab

[1] Sistemas de cultivo:

1 - feijoeiro com milho seco cortado a 10 cm do solo.
2 - feijoeiro com milho seco dobrado à altura da primeira espiga.
3 - feijoeiro com milho seco em pé.

[2] As médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, segundo o teste de Tukey.

CONCLUSÕES

1. A radiação disponível, resultante dos sistemas de cultivo utilizados, não influenciou a disposição dos parênquimas paliçádico e lacunoso, mas influenciou a espessura desses tecidos e da lâmina foliar, promovendo expansão celular nestas estruturas.

2. O parênquima lacunoso foi mais afetado pelas quantidades de radiação do que o paliçádico, sugerindo que, dependendo do grau de radiação e do estádio de desenvolvimento da folha, um tecido pode ser mais influenciado que o outro.

3. Os percentuais de sombreamento obtidos através dos sistemas de cultivo utilizados induziram o aumento da área do folíolo.

REFERÊNCIAS

BURGA MENDONZA, C.A. **Canopy architecture light distribution, and photosyntesis of different dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plant types.** East Lansing, Michigan State University, 1978. 130p. Tese Doutoramento.

BUTLER, R.D. The effect of light intensity on stem and leaf growth in broad bean seedling. **J. Exp. Bot., 14**: 142-52, 1963.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, Cali, Colombia. **Morfología de la planta de frijol común** (*Phaseolus vulgaris* L.); guía de estudio. 2. ed. Cali, 1981. 50p. (04S B-09-01).

CHARLES-EDWARDS, D.A.; CHARLES-EDWARDS, J.; SANT, F.I. Leaf photosynthetic activity in six temperate grass varieties grown in contrasting light and temperature environments. **J. Exp. Bot., 25**: 715-24, 1974.

CIHA, A.J. & BRUN, W.A. Stomatal size and frequency in soybeans. **Crop Sci., 15**:309-13, 1975.

COOPER, C.S. & QUALLS, M. Morphology and chlorophyll content of shade and sun leaves of two legumes. **Crop. Sci., 7**:672-3, 1967.

CORMACK, R.G.H. The effect of extreme shade upon leaf form and structure in *Vicia americana* Muhl. **Can. J. Bot., 33**:293-7, 1955.

CROOKSTON, R.K.; TREHARNE, K.J.; LUDFORD, P.; OZBUN, J.L. Response of beans to shading. **Crop. Sci., 15**:412-6, 1975.

CUTTER, E.G. **Plant anatomy**; experiment and interpretation. London, E. Arnold, 1971. part. 2, 343p.

ESAU, K. **Anatomía de las plantas com semilla.** Buenos Aires, Hemisferio Sur, 1982. 512p.

FISHER, D.G. & EVERY, R.F. Studies on the leaf of *Amaranthus retroflexus (Amaranthaceae)* morphology and anatomy. **Am. J. Bot., 69**:1133-47, 1982.

HUMPHRIES, E.C. & WHEELER, A.W. The physiology of leaf growth. **Annu. Rev. Plant Physiol., 14**:385--410, 1960.

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry**; principles and practice. San Francisco, W.H. Freeman, 1962. 408p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique.** New York, McGraw-Hill, 1940. 523p.

KAPPELL, F. & FLORE, J.A. Effect of shade on photosynthesis, specific leaf weight, leaf chlorophyll content, and morphology of young peach trees. **J. Am. Soc. Hortic. Sci., 108**:541-4, 1983.

KNECHT, G.N. & O'LEARY, J.W. The effect of light intensity on stomate number and density of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. **Bot. Gaz., 133**:132-4, 1972.

LEWIS, M.C. The physiological significance of variation in leaf structure. **Sci. Prog.**, London, **60**:25-51, 1972.

LOPES, N.F.; OLIVA, M.A.; FREITAS, J.G.; MELGES, E.; BELTRÃO, N.E.M. Análise de crescimento e conversão da energia solar em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) submetido a três níveis de densidade do fluxo radiante. **R. Ceres, 29**:586-606, 1982.

SILVA, E.A.M. da. **Developmental anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. 'Bush Blue Lake 290' with special consideration of light influence on leaf development.** Raleigh, North Carolina State University, 1979. 72p. Tese Mestrado.

SILVA, H.T. da; RODRIGUES, J.D.; COSTA, J.G.C. da. Influência do sombreamento causado pelo milho na anatomia da folha de feijoeiro de diferentes hábitos de crescimento. I. Estômatos e Tricomas. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, **23**(12):1387-1400, dez. 1988.

SOUSA, A.V.G. **Efeitos das radiações gama sobre a morfologia de *Phaseolus vulgaris* L. (Leguminosae - Faboideae) e sobre a anatomia de sua folha.** São Paulo, USP - Instituto de Biociências, 1976. 74p. Tese Mestrado.

THOMSON, B.F. The effect of light on cell division and cell elongation in seedlings of oats and peas. **Am. J. Bot., 11**:326-32, 1954.

VERBELEN, J.P. & DE GREEF, J.A. Leaf development of *Phaseolus vulgaris* L. in light and in darkness. **Am. J. Bot., 66**:970-6, 1979.

VOLKENBURGH, E. Van. & DAVIES, W.J. Leaf anatomy and water relations of plants grown in controlled environments and in the field. **Crop Sci., 17**:353-8, 1977.