

## Morfologia e anatomia de gomos de raiz em framboesa

João Viegas Oliveira<sup>1,2</sup>, Cristina M. Oliveira<sup>2</sup>, Teresa Valdivieso<sup>1</sup>, Cândida Trindade<sup>1</sup> e Pedro Brás de Oliveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras

<sup>2</sup>LEAF, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

### Resumo

Para maximizar a produção de plantas de framboesa em viveiro, através da multiplicação vegetativa, tornou-se necessário o estudo da origem e do desenvolvimento de gomos de raiz. Selecionaram-se raízes de plantas da cultivar Kweli com duas datas de plantação, (27 de abril e 16 de março) e com duas modalidades de armazenamento em frio (sem frio e submetidas a 45 dias de frio). Estabeleceram-se dois protocolos de abrolhamento de gomos de raiz para acompanhar de forma pormenorizada o seu desenvolvimento.

Para o estudo morfológico da evolução dos gomos de raiz, recolheram-se gomos em diferentes estádios de forma a obter uma escala morfológica. Para o estudo anatómico, utilizaram-se os gomos já classificados na escala morfológica e procedeu-se à fixação, desidratação, e inclusão em parafina para a realização de cortes histológicos. Os cortes foram corados para observação em microscopia ótica e aquisição de imagens.

Com base nos resultados obtidos foi estabelecida uma escala morfológica, com estádios do zero ao cinco (em que o zero corresponde a uma pequena protuberância na raiz e o cinco um lançamento de raiz já desenvolvido). Paralelamente estabeleceu-se uma escala anatómica que permitiu avaliar a atividade celular e a origem da formação dos novos gomos de raiz. Ao longo da realização deste ensaio, verificou-se a existência de gomos no estádio 1, com epiderme de tonalidades diferentes: gomo com epiderme clara e gomo com epiderme escura. Através de cortes histológicos verificou-se que um deles era um gomo radicular e o outro vegetativo. Desta forma, a contagem de gomos vegetativos só deve ser considerada a partir do estádio 2, devido às características morfológicas dos estádios 0 e 1.

**Palavras-chave:** estádios de desenvolvimento, lançamentos de raiz, propagação vegetativa, raízes adventícias, *Rubus idaeus*

### Abstract

#### Raspberry root bud morphology and anatomy

To maximize the production of raspberry plants in the nursery, through vegetative multiplication, it became necessary to study the origin and development of root buds.

Roots were selected from Kweli cultivar from two planting dates, (april 27 and march 16) and with two cold storage treatments (without cold and submitted to 45 days of cold). Two root bud burst protocols were established to follow their development in detail.

For the morphological study of root bud development, buds were collected at different stages in order to obtain a morphological scale. For the anatomical study, the buds already classified on the morphological scale were used and proceeded to fixation,

dehydration, and paraffin embedding for histological sections. The sections were stained for observation under light microscopy and image acquisition.

Based on the results obtained, a morphological scale was established, with stages from zero to five (where zero corresponds to a small protuberance in the root and five corresponds to a developed root tip). In parallel, an anatomical scale was established to evaluate cell activity and the origin of the formation of new root buds. Throughout this test, it was verified the existence of buds, with epidermis of different tonalities: bud with light epidermis and bud with dark epidermis. Through histological cuts it was verified that one of them was a root bud and the other was a vegetative bud. Thus, the counting of vegetative buds should only be considered from stage 2, due to the morphological characteristics of stages 0 and 1.

**Keywords:** adventitious roots, *Rubus idaeus*, development stages, suckers, vegetative propagation

### Introdução

A framboesa é uma planta semilenhosa, o que significa que contém um sistema radicular típico de plantas lenhosas, ou seja, um sistema radicular perene, no qual, se identifica a particularidade de criação de lançamentos a partir do sistema radicular. Embora esteja caracterizada a existência de gomos adventícios no sistema radicular, a morfologia é praticamente desconhecida. Por outro lado, a parte aérea desta planta é herbácea, no primeiro ano de crescimento, tendo a capacidade de lenhificar os tecidos aéreos para produzir frutos no segundo ano.

Estes gomos que posteriormente darão origem a rebentos, encontram-se normalmente em porções de raízes que crescem verticalmente ou num ângulo inclinado. Eles são especialmente comuns em locais perto do ponto em que a raiz muda de direção repentinamente e em áreas onde a produção de radículas é prolífera (Christensen, 1947). A temperatura e a intensidade luminosa também estão positivamente correlacionadas com a percentagem de rebentos por raiz, número de rebentos, altura média e peso seco (Johansson & Lundh, 1988). As raízes laterais formam-se a partir do periciclo estando o seu início relacionado com diversos reguladores de crescimento. (Torrey, 1976).

Hudson (1958) refere que o início do alongamento dos lançamentos apenas acontece após a iniciação foliar e que a expansão foliar só acontece quando o lançamento emerge à superfície do solo (fig. 1). A importância do frio na dormência dos gomos de raiz não se encontra documentada, mas à semelhança dos gomos dos lançamentos, é de esperar que também estejam sujeitos a endodormência, paradormência (dominância apical) e fatores externos como as baixas temperaturas (ecodormência) (Lang et al., 1985). Todos estes fatores podem atuar em combinação e ter um efeito acumulativo no crescimento dos gomos, nomeadamente no final do inverno (White et al., 1998).

Para maximizar a propagação de plantas de framboesa, é necessário conhecer melhor o comportamento dos gomos de raiz, desde a criação de raízes até à sua emergência, e os fatores que influenciam o seu desenvolvimento. Este estudo pretende contribuir para um melhor conhecimento da morfologia e anatomia dos gomos de raiz em framboesa vermelha.

## Material e Métodos

Este ensaio teve como objetivo estudar em que zonas da raiz ocorre a formação de primórdios vegetativos e descrever a morfologia do gomo radicular ao longo do seu desenvolvimento, até este dar origem a um novo lançamento.

Para a obtenção de uma escala morfológica dos gomos de raiz selecionaram-se diversas raízes de plantas jovens da cultivar Kweli (data de plantação – 27 de abril de 2020) e mais velhas (data de plantação 16 de março de 2020) submetidas a dois tratamentos de frio; sem frio e submetidas a 45 dias em câmara frigorífica a 4 °C. As raízes depois de lavadas foram separadas em três classes de diâmetros: > 2 mm; 1-2 mm; < 1 mm (medidas com uma craveira digital). Para a quantificação do número de gomos nas raízes, separadas pelas respetivas classes, foi utilizada uma lupa binocular, determinando-se o local de maior incidência desses gomos no sistema radicular.

Numa primeira fase do estudo foi utilizado o seguinte protocolo:

### Protocolo 1:

1. Escolheram-se raízes com as três classes de diâmetros para a sua colocação em caixa de Petri, sendo a amostra constituída por três repetições por modalidade.
2. Confinou-se uma raiz por caixa de Petri, devidamente identificada.
3. Colocou-se por cima da raiz uma camada de perlite.
4. Humidificou-se a perlite para criar um ambiente semelhante ao da propagação em estufa.
5. Fechou-se a caixa de Petri e envolveu-se com papel de alumínio devidamente identificado.
6. Colocou-se numa câmara de crescimento, com temperatura constante de 20 °C, durante seis semanas.
7. Efetuaram-se leituras semanais por modalidade e repetição, contabilizando-se o número de gomos e os seus estádios, colocando as raízes na mesma caixa de Petri e re-humidificando a perlite.

Durante o estudo verificou-se que a manipulação e possível desidratação das raízes comprometia o seu desenvolvimento pelo que foi necessário reformular o protocolo para o que a seguir se descreve:

### Protocolo 2:

1. Escolheram-se raízes consideradas exemplares para a sua colocação em caixa de Petri, com a cultivar Kweli e diferentes genótipos, sendo a amostra constituída por três repetições.
2. Confinou-se cada raiz numa caixa de Petri, devidamente identificada.
3. Colocou-se por cima da raiz uma camada de perlite.
4. Humidificou-se a perlite para criar um ambiente o mais semelhante ao da propagação em estufa.
5. Colocou-se a caixa de Petri em cestos com a seguinte estrutura de camadas (ascendente): 1 – Argila expandida; 2 - Substrato; 3 – Caixas de Petri com raízes; 4 – Substrato.
6. Foram realizados 4 cestos, cada uma correspondente a cada semana de contagem de gomos e seus estádios.

No segundo protocolo foram simuladas as condições existentes na estufa de multiplicação, permitindo dar às raízes condições de luminosidade, picos de temperaturas superiores aos dos protocolos 1 e evitar a manipulação das raízes.

Para estabelecer uma escala morfológica observaram-se e registaram-se as imagens dos gomos ao longo do seu desenvolvimento em diferentes estádios utilizando uma lupa (Leica DCM8). Paralelamente para estabelecer a escala anatómica, após a aquisição de imagens os mesmos gomos foram fixados com F.F.A (1-formaldeído: 1-ácido acético glacial: 18- etanol 70%), desidratados numa série progressiva de etanol e utilizando-se o histoclear como solvente para a inclusão em parafina. Os cortes histológicos foram realizados com 10  $\mu\text{m}$  de espessura, utilizando um micrótomo (Leica RM2255) e corados utilizando uma dupla coloração com astrablue e safranina. Realizaram-se montagens permanentes para observação em microscopia ótica e aquisição de imagens (Leica DMC5400).

### Resultados e Discussão

O primeiro protocolo não conseguiu evidenciar nenhuma evolução nos gomos, seja pela sua elevada manipulação, condições de falta de luminosidade nas placas ou mesmo pela ausência de alterações na temperatura. Esta observação vai de encontro ao referido por Johansson & Lundh (1988) que verificaram que a temperatura e luminosidade são significativamente importantes para o abrolhamento de gomos de raiz. Assim, decidiu-se aplicar um segundo protocolo que permitiu o desenvolvimento dos gomos até ao estádio 4. No entanto, não nos permitiu obter fotografias da sua histologia devido à fragilidade na sua manipulação. Apesar de tudo, este protocolo permitiu recolher imagens de todos os estádios morfológicos dos gomos. A partir das imagens obtidas, foi construída uma escala em que os gomos foram classificados entre estádio zero e estádio quatro (fig. 2).

No estádio 0 (fig. 2A), encontra-se evidente que existe uma diferenciação das estruturas celulares na superfície da raiz. No estádio 1 (fig. 2B), observou-se uma protuberância na epiderme compatível com o início da formação do gomo. No estádio 2 (fig. 2C), é visível o rompimento da epiderme, tornando-se evidente o meristema apical do gomo. No estádio 3 (fig. 2D), já se encontram formadas brácteas na zona apical do gomo. Por fim no estádio 4 (fig. 2E), observou-se o alongamento do lançamento com a formação de várias brácteas.

Ao longo da observação das raízes, verificou-se que existiam mais gomos em zonas curvas, mudanças de direção repentinas e locais de produção de radículas, tal como Christensen (1947) afirmou. Também se observou que em raízes em que a incidência dos gomos era baixa, estes apresentavam-se muito próximo formando grupos de três ou quatro. Não foi possível estudar este comportamento, mas sugere-se que serão zonas em que as condições para a viabilidade de abrolhamento sejam mais favoráveis, tal como maior acumulação de reservas que são essenciais para a emissão de novos lançamentos. Verificou-se, também que durante o alongamento do lançamento, se deu a iniciação foliar, tendo-se observado a formação de folhas, no entanto, devido à ausência de luminosidade, o rebento continuou o seu alongamento até a primeira folha captar luminosidade, iniciando a expansão foliar e dando início ao processo fotossintético, tal como referido por Hudson (1958).

Através das imagens da morfologia e das imagens dos cortes histológicos, foi estabelecido um paralelo entre as duas escalas (morfologia/anatómica), exceto para o estádio 4, em que devido às dimensões do material não foi possível realizar corte e obter imagens da anatomia.

No estágio 0, observou-se a existência de atividade celular na endoderme, córtex e epiderme, o que sugere o início do desenvolvimento de um gomo vegetativo (fig. 3A). Numa segunda fase verifica-se uma intensidade mitótica, originando um intumescimento na epiderme. (fig. 3B) e uma atividade meristemática na zona do gomo (fig. 3C). Observa-se que nestes dois últimos estádios, é necessário o alongamento de células, para a alimentação e desenvolvimento do gomo a partir das reservas. Na fase final já se verifica a existência de um meristema apical, com primórdios foliares laterais com alongamento das células, tendo uma zona de separação bem definida entre a raiz progenitora e o gomo (fig. 3D).

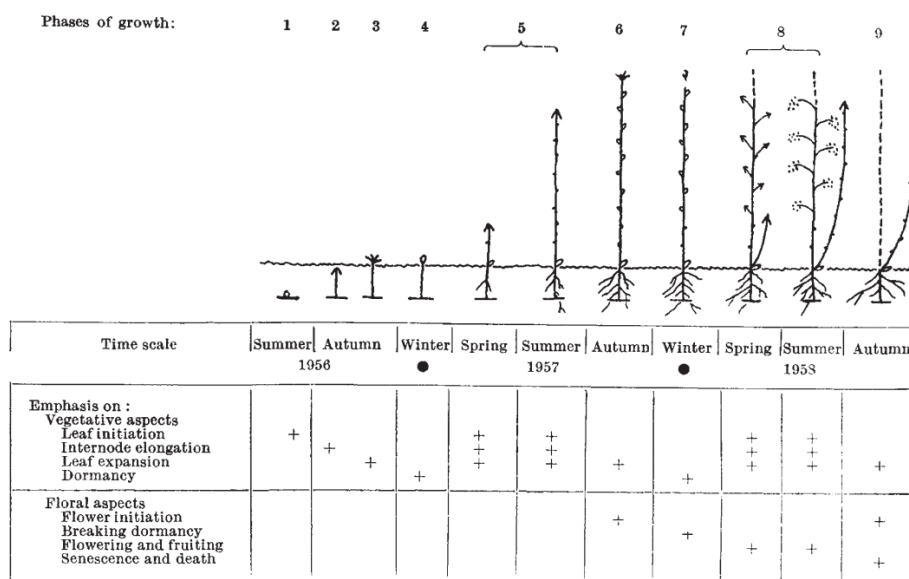
Ao longo do ensaio observou-se -se que em algumas raízes existiam dois tipos de gomos, muito semelhantes, mas com epiderme de tonalidades diferentes: gomo com epiderme clara e gomo com epiderme escura. Foram realizados cortes histológicos para ambos os tipos de gomo tendo-se observado que o mais escuro daria origem a uma raiz, gomo radicular, e o mais claro iria originar um lançamento vegetativo (fig. 4).

Através de cortes histológicos foi possível distinguir os tecidos que constituem os gomos, que conforme Torrey (1976), os lançamentos laterais originados a partir de troncos provêm de tecidos periféricos, enquanto raízes laterais começam a formar-se a partir do periciclo (fig. 4B e C). O gomo radicular contém uma formação de feixes vasculares, já definidos, ligados ao feixe vascular da raiz principal, enquanto o alongamento celular que verificamos no gomo vegetativo advém de reorganização celular. Desta forma, a contagem de gomos vegetativos só deve ser considerada a partir do estágio 2, devido às características morfológicas dos estádios 0 e 1.

Serão necessários mais estudos para obter uma escala de classificação de gomos de raiz, que permita aferir com elevada certeza da capacidade de multiplicação vegetativa dos diferentes genótipos em framboesa. Este método deverá ser desenvolvido utilizando preferencialmente câmaras de crescimento, permitindo a incidência de luz nas raízes a avaliar.

## Referências

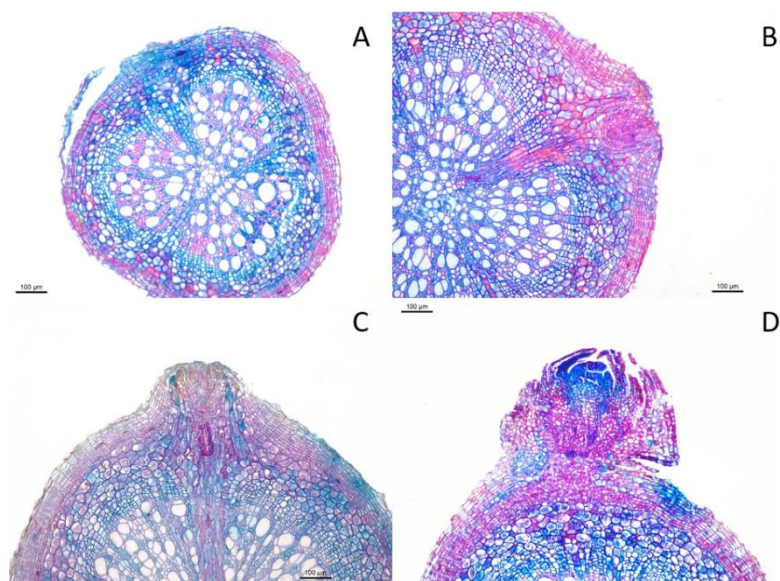
- Christensen, J. R. (1947). Root studies. XI. Raspberry root systems. *Journal of Pomology and Horticultural Science*, 23(4), 218-226. DOI: 10.1080/03683621.1947.11513671
- Hudson, J. P. (1958). Effects of weather on plant behaviour. *Nature*, 182(4646), 1337-1340.
- Johansson, T., & Lundh, J. E. (1988). Sucker production from root cuttings of *Populus tremula* in relation to growing conditions. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 3(1-4), 75-82.
- Lang, G. A., Early, J. D., Arroyave, N. J., Darnell, R. L., Martin, G. C. and Stutte, G. W. (1985). Dormancy: Toward a reduced, universal terminology. *HortScience*, 20, 809-812.
- Torrey, J. G. (1976). Root hormones and plant growth. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 27, 435-459
- White, J. M., Wainwright, H., & Ireland, C. R. (1998, January). Endodormancy and paradormancy in the raspberry cultivar 'Glen Clova'. *In VII International Symposium on Rubus and Ribes 505* (pp. 199-206). DOI: 10.17660/ActaHortic.1999.505.25



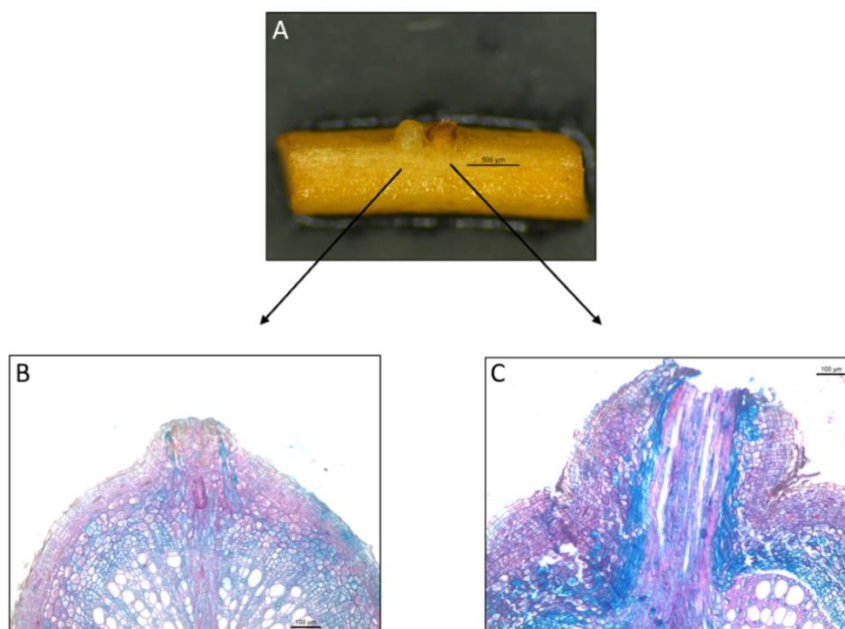
**Figura 1** - Fases de desenvolvimento da planta da framboesa e aspetos vegetativos e florais ao longo do seu ciclo, em que: 1 - Iniciação do gomo de raiz; 2 - Rebento subterrâneo; 3 - Rebento emergente; 4 - Primeira dormência de inverno; 5 - Alongamento do lançamento; 6 - Iniciação dos gomos florais; 7 - Quebra de dormência dos gomos florais; 8 - Floração e frutificação; 9 - Senescência e morte. (Fonte: Hudson, 1958)



**Figura 2** - Escala morfológica de gomos de raízes adventícias em framboesa, em que: Imagem A - Gomo no estágio 0 (verifica-se uma pequena protuberância); Imagem B - Gomo no estágio 1 (observa-se um crescimento da protuberância); Imagem C - Gomo no estágio 2 (já se observa um intumescimento); Imagem D - Gomo no estágio 3 (verifica-se a existência de brácteas); Imagem E - Gomo no estágio 4 (aparecimento do lançamento de raiz)



**Figura 3** - Escala histológica de gomos de raízes adventícias em framboesa, em que: Imagem A - Gomo no estágio 0 (verifica-se alguma atividade celular na zona periférica da raiz) ; Imagem B - Gomo no estágio 1 (observa-se atividade celular, surgindo uma maior densidade de células na zona central do intumescimento) ; Imagem C - Gomo no estágio 2 (já se observa alguma atividade meristemática no gomo); Imagem D - Gomo no estágio 3 (verifica-se a existência de um meristema apical e de meristemas foliares laterais)



**Figura 4** - Diferenciação morfológica e anatómica dos gomos com epiderme clara e escura. (Imagem A - Diferenciação morfológica de gomos com epiderme clara e escura; Imagem B - Estrutura anatómica do gomo com epiderme clara; Imagem C - Estrutura anatómica do gomo com epiderme escura)