

# Estrutura foliar e de cloroplastídeos de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz

Girlene Santos de Souza<sup>1</sup>, Evaristo Mauro de Castro<sup>2</sup>, José Eduardo Brasil Pereira Pinto<sup>3</sup>, Eduardo Alves<sup>4</sup>, Gabriel Biagiotti<sup>5</sup>, Sidnei Deuner<sup>1</sup>

## Introdução

*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker conhecida vulgarmente como guaco, pertencente à família Asteraceae, é uma espécie medicinal encontrada nas regiões subtropicais da América do Sul, da África e da Ásia [1]. O guaco é um dos fitoterápicos de maior consumo, utilizado principalmente no tratamento de afecções respiratórias, que age dilatando os brônquios, sendo a cumarina uma das substâncias associadas a esse efeito [2]. Contudo, destacam-se ainda estudos que estão sendo desenvolvidos, verificando outros efeitos farmacológicos desta planta, como, por exemplo, sua atividade analgésica, antibacteriana, antiinflamatória, fungicida e anticancerígena [3].

A qualidade espectral pode afetar a biossíntese de compostos químicos, como também estruturas anatômicas das folhas, exercendo efeitos durante a expansão foliar, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade de luz [4,5].

Essas técnicas de alteração espectral pelo uso de sombrite colorido são bastante promissoras no desenvolvimento das plantas [6], principalmente em relação aos efeitos morfoanatômicos e fisiológicos, sendo que as respostas variam de acordo com a espécie estudada [5,7].

O presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito da qualidade de luz, com uso de sombrites coloridas sobre características da anatomia foliar de Guaco.

## Material e métodos

Mudas de guaco, a partir de segmentos caulinares, foram formadas e posteriormente cultivadas em vasos por 90 dias sob os tratamentos de sombreamento com sombrite colorido ChromatiNet 50% vermelha, azul, preta e pleno sol (sem sombrite).

Na caracterização anatômica foram utilizadas folhas completamente expandidas do terceiro nó do ramo central da planta. Para microscopia de luz, as amostras foram fixadas em etanol 70%.

Os cortes transversais foram efetuados à mão livre, com auxílio de lâminas de barbear, submetidos à clarificação com hipoclorito de sódio 50%, corados com

azul de astra-safranina e, posteriormente montadas em lâminas semipermanentes com água glicerinada. Nas seções transversais foram realizadas medições para avaliar as espessuras da epiderme nas faces abaxial e adaxial e dos parênquimas paliçádico e lacunoso.

Com relação à caracterização dos estômatos foram feitos cortes paradérmicos manuais na parte mediana de cada folha na face abaxial da epiderme e submetida ao processo de coloração com safranina a 0,1% em água glicerinada. As observações foram realizadas com o auxílio de câmara clara, em microscópio Olympus CBB. A característica avaliada foi número de estômatos/mm<sup>2</sup>.

As amostras para microscopia eletrônica de transmissão (MET), foram fixado em solução Karnovsky por um período de 24 h, lavadas em tampão cacodilato 0,05M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixada em tetróxido de ósmio 1% por 4 horas. Em seguida foram transferidas para solução a 0,5% de acetato de uranila, por 12h a 4°C. Posteriormente, iniciou-se o processo de desidratação em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100% três vezes por 10 minutos), incluídas em série crescente acetona/resina Spurr 30% (8h), 70% (12h) e 100% (2 vezes de 24h), sendo os espécimes montadas em moldes e polimerizadas em estufa a 70°C. Os blocos foram cortados em seções ultrafinas (<100 nm) em ultramicrótomo com navalha de diamante. Os cortes foram pós-contrastados com acetato de uranila seguido por acetato de chumbo e examinados em microscópio eletrônico de transmissão. As características observadas para as análises ultraestruturais foram o número, a área, perímetro e comprimento dos cloroplastos em células do parênquima paliçádico.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância sendo que as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR versão 4.3.

## Resultados e discussão

Nas seções transversais da lâmina foliar, observou-se que a espessura do limbo foi maior em plantas de guaco cultivadas a pleno sol quando comparado aos demais

1. Estudante de Doutorado do Departamento Biologia, Universidade Federal de Lavras. Email: girlenesouza@yahoo.com.br

2. Professor Adjunto do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000.

3. Professor Adjunto do Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000.

4. Professor Adjunto do Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000.

5. Aluno de Iniciação Científica do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000

Apoio financeiro: CNPq.

tratamentos, os quais não deferiram estatisticamente (Tab. 1).

Com relação aos parênquimas paliçádico e lacunoso, as maiores médias foram observadas em plantas cultivadas em sombrite vermelho, evidenciando um maior crescimento vegetativo, pois na maioria dos casos observa-se redução da espessura foliar sob radiação vermelha [4]. Por outro lado verificou-se que não houve diferença significativa entre os tipos de sombrites utilizados com relação ao parênquima lacunoso. Este aumento do parênquima paliçádico e conseqüentemente do limbo foliar constitui característica importante ao processo fotossintético. Folhas com parênquima paliçádico mais espesso apresentam coeficiente de extinção da luz mais alto, portanto, espera-se que tais folhas tenham maiores taxas fotossintéticas [8].

Quanto à densidade estomática, as plantas cultivadas em sombrite azul apresentaram valores elevados (Tab. 2) quando comparados aos demais tratamentos, sendo que a menor densidade foi observada nas plantas que estavam em condições de sombrite preto, evidenciando que houve efeito dos tratamentos. Entretanto, resultados encontrados para outras espécies, geralmente ocorre um aumento na frequência e no índice estomático, à medida que aumenta a intensidade luminosa, ou seja, em plantas mantidas a pleno sol [9], ao contrário dos resultados encontrados neste trabalho. Um aumento na densidade estomática pode permitir que a planta aumente a condutância estomática de gases e, assim, evitar que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições de ambiente [10].

A ultraestrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de *Mikania laevigata* é mostrado na figura 1. Observa-se que a estrutura e o tamanho dos cloroplastos mudaram de acordo com o tratamento e que os mesmos estão localizados próximos à parede celular, somente no tratamento com sombrite vermelho algumas dessas organelas encontram-se dispersas no meio intracelular. Devido à forma e ao arranjo dessas células, os cloroplastos podem se dispor paralelamente às paredes celulares, aumentando a eficiência fotossintética ou reduzindo os danos pelo excesso de luz.

Em todos os tratamentos verificou-se a presença de grãos de amido (Fig. 1), devido à condição de exposição de qualidade espectral a que foram submetidos, sendo que os cloroplastos de plantas submetidas a pleno sol apresentaram maiores quantidades desses grãos (dados não mostrados).

Plantas cultivadas sob sombrite azul apresentaram maior número de cloroplastos por célula, quando

comparadas aos demais tratamentos (Tab. 3). A luz azul é importante para o desenvolvimento de cloroplastos e tem se mostrado mais efetiva na formação destes que a luz vermelha [4]. No entanto, a exposição à luz vermelha e vermelha distante durante o crescimento e desenvolvimento foliar influencia significativamente o desenvolvimento dos cloroplastos [11].

Os usos de sombrites coloridos promovem alterações morfológicas, anatômicas e ultraestruturais em *Mikania laevigata*, a qual apresenta uma grande plasticidade fenotípica em função dos tratamentos de qualidade de luz, sendo que a luz vermelha promoveu uma diferenciação das células.

## Referências

- [1] LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. 2003. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 254 p.
- [2] PEREIRA, A.M.S.; CÂMARA, F.L.A.; CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; FRANÇA, S. C. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. *Journal of Herbs Spices e Medicinal Plants*, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2000
- [3] ABIFITO. O guaco, planta nativa da Mata Atlântica, tem mais propriedades terapêuticas do que se supunha. Disponível em: <<http://www.abifito.com.br>>.
- [4] SCHUERGER, A.C.; BROWN, C.S.; STRYJEWSKI, E.C. 1997. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. *Annals of Botany*, 79: 273-282
- [5] LEE, D.W. *et al.* 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany*, 87, 4: 447-455.
- [6] GRINBERGER, A.; SHOMRON, M.; GANELEVIN, R. Shading nets testing, 2000. Disponível em: <<http://www.polysack.com/index.php>>
- [7] KIM, S.-J.; HAHN, E.-J.; HEO, J.; PAEK, K.-Y. 2004. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. *Scientia Horticulturae*, 101: 143-151.
- [8] BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; DRAXLER, G. Functional leaf anatomy. In: HALL, D.O. *et al.* Photosynthesis and production in a changing environment. London: Chapman e Hall, 1993. p.91-112.
- [9] BJORKMAN, O.; HOLMGREN, P. Adaptability of photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed and shade habitats. *Physiologia Plantarum*, v. 16, n. 4, p. 889-915, 1963
- [10] CASTRO, E. M. Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento. 2002. 221 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG
- [11] LEONG, T.; GOODCHILD, D.J.; ANDERSON, J.M. 1985. Effect of light quality on the composition, function and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium australicum* (Sm.) Hook. *Plant Physiology*, 78: 561-567.

**Tabela 1.** Espessura da face abaxial e adaxial na epiderme, parênquima paliçádico e lacunoso de plantas jovens de *Mikania laevigata* em função dos tipos de sombreamento com sombrite colorida. LF: limbo foliar; AD: face adaxial da epiderme.; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso; AB: face abaxial da epiderme. Espessura ( $\mu\text{m}$ ).

Tratamento	AD	PP	PL	AB	LF
Pleno sol	19,44 ab	91,21 c	150,39 a	18,54 b	279,58 b
Vermelho	23,15 c	115,83 d	155,68 a	21,73 c	316,39 a
Azul	18,32 a	62,73 a	148,43 a	16,20 a	245,68 a
Preto	20,84 b	79,20 b	147,42 a	17,91 b	265,37 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a  $P \leq 0,05$  (n=10).

**Tabela 2.** Densidade estomática de *Mikania laevigata* cultivadas em diferentes ambientes de luz com sombrite colorido.

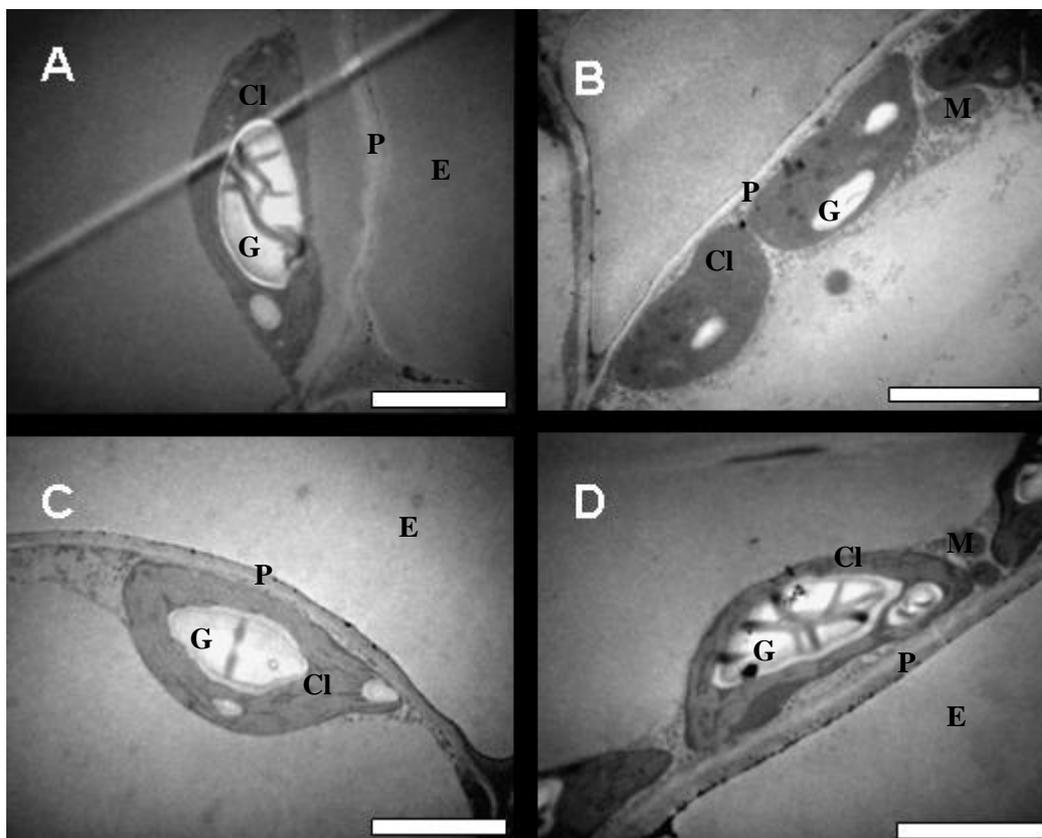
Tratamentos	Número de estômatos/ $\text{mm}^2$
Pleno sol	196,84 ab
Vermelho	190,92 a
Azul	215,34 b
Preto	186,48 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a  $P \leq 0,05$ .

**Tabela 3.** Número e tamanho de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico de *Mikania laevigata* em função dos tipos de sombreamento com sombrite colorido.

Tratamento	Cloroplastos				
	Número/célula	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )
Vermelho	3,75b	7,74a	14,07a	5,86a	1,86b
Preto	4,25b	4,85b	9,44c	3,36b	1,91b
Azul	5,87a	8,04a	11,89b	4,06b	2,49a
Pleno Sol	3,25b	8,55a	14,41a	5,96a	2,09ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a  $P \leq 0,05$  (n=10).



**Figura 1.** Eletromicrografia de transmissão eletrônica (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliçádico de lâminas foliares de *Mikania laevigata* submetidas a diferentes ambientes e luz com sombrites coloridos. (A) Sombrite vermelho, (B) Sombrite preto, (C) Sombrite azul e (D) Pleno sol. Barra =  $1\mu\text{m}$ . CI: cloroplasto; E: espaço intercelular; G: grão de amido no interior do cloroplasto; P: parede celular; M: mitocôndria.