

Respostas Anatômicas de Plantas de Erva-de-Bicho (*Polygonum punctatum* Elliot) Submetidas ao Alagamento

Sidnei Deuner^{1*}, Rairys Cravo Nogueira¹, Ilisandra Zanandrea¹, Evaristo Mauro de Castro², José Donizeti Alves², Emanuelle Ferreira Melo³

Introdução

Em solos submersos, a água ocupa os espaços antes preenchidos pelo ar, provocando mudanças nas características do solo, que poderão influenciar o crescimento e desenvolvimento de plantas. Com o solo inundado, ocorre uma rápida queda na concentração de oxigênio em função de sua baixa taxa de difusão na água e também pelo rápido consumo do mesmo por plantas e organismos submersos [1], e como consequência, manifestam-se vários distúrbios no metabolismo vegetal, reduzindo o crescimento vegetativo e o reprodutivo [2,3]. Apesar disso, existem várias espécies de plantas, especialmente as mais adaptadas a ambientes alagados, que respondem favoravelmente a uma baixa oxigenação do solo, formando aerênquimas [3,4]. Estas plantas são muito importantes na formação de matas ciliares funcionando como obstáculos ao carreamento do solo.

Aerênquima é uma especialização do tecido parenquimático em que se desenvolvem grandes espaços intercelulares preenchidos por gases, geralmente interligados, formando uma fase gasosa contínua que se ramifica por todo o tecido [5]. A hipoxia (déficit de oxigênio) estimula a produção de etileno [6,7] que, por sua vez, provoca a indução de enzimas que atuam no metabolismo da parede celular [7] culminando na formação desses aerênquimas.

O cálcio, como elemento estrutural, participa de ligações covalentes entre os grupos carboxílicos dos ácidos poligalacturônicos, constituintes da parede celular [8,9], além de ser o único elemento mineral que possui atividade apoplástica [10]. Até o momento, todas as pesquisas têm apontado o cálcio como mensageiro secundário na percepção do déficit de oxigênio, ocorrendo uma elevação na sua concentração, no citoplasma, promovendo a expressão de genes que codificam peptídeos anaeróbicos [11,12].

O presente trabalho teve por objetivo verificar modificações anatômicas em plantas de erva-de-bicho submetidas ao alagamento, associadas à presença e ausência de cálcio.

Material e métodos

Plantas de erva-de-bicho (*P. punctatum* Elliot) foram cultivadas por cinco semanas em bandejas de isopor contendo como substrato Plantmax, sendo irrigadas

diariamente, e realizada uma aplicação de 10 mL por planta de solução nutritiva completa [13] quatro semanas após a germinação. Após este período, as plantas foram retiradas cuidadosamente do substrato, suas raízes lavadas e submetidas ao alagamento em tubos de PVC contendo solução de CaCl₂ (0,75%) ou água destilada, e mantidas em câmara de crescimento a 27±2°C, no escuro, por períodos de 1, 3, 5 e 7 dias. Como controle foram utilizadas plantas não alagadas. Após cada período de alagamento, foram coletadas amostras de raízes, as quais foram imersas em solução fixadora Karnovisk (pH 7,2) por um período de 24 h. Posteriormente, em capela de exaustão, as amostras foram lavadas em tampão cacodilato por três vezes e fixadas em tetróxido de ósmio 1% por 4 horas, em temperatura ambiente. Em seguida as amostras foram lavadas em água destilada e desidratadas em gradiente de acetona (25, 50, 75, 90 e 100%, três vezes). Para microscopia eletrônica de varredura, as raízes foram conduzidas ao aparelho de ponto crítico para a secagem e então montadas em stubs para cobertura com ouro. Os espécimes foram observados no Microscópio Eletrônico de Varredura LEO Evo 40, localizado no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) no Departamento de Fitopatologia da UFPA.

Para os estudos de anatomia foliar utilizou-se amostra de folhas, onde foram extraídas seções de 0,5 cm², em sua região mediana, e efetuados estudos anatômicos, com base no exame microscópico de cortes transversais obtidos à mão livre. A partir do diâmetro médio foram obtidos os tamanhos dos aerênquimas das folhas e raízes.

Resultados e discussão

Por meio das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, observou-se que o alagamento ocasionou formação de aerênquimas na região do córtex das raízes de erva-de-bicho (Figura 1). O mesmo aspecto foi observado na região da nervura central em folhas através da microscopia de luz (Figura 2). Na ausência de cálcio, nas raízes, o diâmetro médio dos aerênquimas aumentou ao longo do período de alagamento, quando comparadas com as plantas alagadas na presença de cálcio, onde também houve no tamanho dos aerênquimas, no entanto, em menor proporção (figura 3). Já nas folhas, quando as plantas foram submetidas ao alagamento na presença de cálcio praticamente não

1. Estudante de Doutorado do Departamento Biologia, Universidade Federal de Lavras. * E-mail: sdeuner@yahoo.com.br

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

3. Estudante de Mestrado do Departamento Biologia, Universidade Federal de Lavras.

Apoio financeiro: CNPq.

houve aumento no tamanho dos aerênquimas. Quando alagadas na ausência do cálcio, houve um aumento linear na formação de aerênquimas (figura 4).

Ao final do período de alagamento, observou-se que o diâmetro médio das cavidades dos aerênquimas das raízes de plantas alagadas na presença de cálcio foi de 68,5 µm, enquanto que sem cálcio foi de 95 µm. Estes resultados seguem a mesma tendência aos encontrados em milho "Saracura", no qual, sob condições de alagamento, ocorreu um desenvolvimento de aerênquimas lisígenos, tanto em raízes quanto em coleótilo, sendo que a aplicação exógena de cálcio diminuiu a formação dos mesmos [14].

Plantas alagadas por 5 e 7 dias, tanto na presença quanto na ausência de cálcio, não apresentaram diferença nos tamanhos das cavidades do aerênquima, no entanto no alagamento sem cálcio, houve formação de cavidades em maior quantidade (Figura 2F-I).

Como o alagamento provoca a desestruturação dos componentes da parede celular [15], o cálcio possivelmente atua como um elemento importante na manutenção da integridade desta estrutura durante períodos prolongados de alagamento e, desta forma, evita o colapso celular e assim um menor desenvolvimento de aerênquimas. Formação de aerênquimas também foram observados em *Jacaranda puberula* [16] e *Peltophorum dubium* [17] submetidos ao alagamento.

Considerando-se que a presença de aerênquimas confere às plantas uma maior adaptação à baixa disponibilidade de oxigênio, estes resultados mostram que as plantas de erva-de-bicho reagiram eficientemente a este estresse. A formação de aerênquimas é vantajosa em plantas que se desenvolvem em ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio, por diminuir a resistência de difusão desse gás entre órgãos aerados e não aerados [3]. Desta forma, ainda que o ambiente externo esteja hipóxico, ou mesmo anóxico, internamente a raiz encontra-se aerada.

No entanto, a degradação da parede celular imposta por períodos prolongados de hipoxia, provoca uma lise excessiva de células na região apical das raízes, e em um estágio mais avançado, forma uma constrição, e com isto a morte das plântulas [18]. Com aplicação de cálcio exógeno retardou-se o aparecimento de danos nas folhas e raízes, podendo contribuir para uma maior sobrevivência.

Referências

- [1] KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. 1984. Effect of flooding on water, carbohydrate and mineral relation. In: KOZLOWSKI, T.T. *Flooding and plant growth*. Orlando: Academic Press, p.165-188.
- [2] KOZLOWSKI, T. T. 1997 Responses of wood plants to flooding and salinity. www.heronpublishing.com/tp/monograf/koslowiski.pdf.
- [3] DREW, M. C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48:223-250.
- [4] JUSTIN, S. H. F.; ARMSTRONG, W. 1987. The anatomical characteristics of root and plant response to soil flooding. *New Phytologist*, 106:465-495.
- [5] MAUSETH, J. D. 1988. *Plant anatomy*. Menlo Park: The Benjamin/Cummings, 560p.
- [6] KAWASE, M. 1974. Role of ethylene in induction of flooding in sunflower. *Physiologia Plantarum*, v.31, p.29-38.
- [7] HE, C. J.; MORGAN, P. W.; DREW, M. C. 1996b. Transduction of ethylene signal required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation during hypoxia. *Plant Physiology*, v.112:463-472.
- [8] GRAND, G. T.; MORRIS, D. A.; REES, P. J. P.; SMITH, K. A. 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg bos model. *FEBS Letters*, Amsterdam, 32(1):195-198.
- [9] DAMARTY, M.; MORUAN, C.; THELLIER, M. 1984. Calcium and Cell, *Plant Cell Environmental*, Oxford, 7:441-448.
- [10] SELING, S. WISSEMEIER, A. H.; CAMBIER, P.; CUTSEM, P. V. 2000. Calcium deficiency in potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) leaves and its effects on the pectic composition of the apoplastic fluid. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 109, n. 1, p. 44-50.
- [11] SUBAIAH, C. C.; BUSH, D. S.; SACHS, M. M. 1994. Elevation of cytosolic calcium precedes anoxic gene expression in maize suspension cultured cells. *The Plant Cell*, 6:1747-1762.
- [12] SACHS, M. M.; SUBAIAH, C. C.; SAAB, I. N. 1996. Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *Journal of Experimental Botany*, 47:1-15.
- [13] HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. 1938. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experimental Station. Circ.* n.347.
- [14] DANTAS, B. F.; ARAGÃO, C. A.; ALVES, J. D. 2001. Cálcio e o desenvolvimento de aerênquimas e atividade de celulase em plântulas de milho submetidas à hipoxia. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, 58:251-257.
- [15] SAAB, I. N.; SACHS, M. M. A. 1996. Flooding-induced xyloglucanendotransglycosylase homolog in maize is responsive to ethylene and associated with aerenchyma. *Plant Physiology*, 112:385-391.
- [16] PIMENTA, J.A., MEDRI, M.E., BIANCHINI, E., MULLER, C., OKAMOTO, J.M., FRANCISCONI, L.M.J. & CORREA, G.T. 1996. Aspectos da morfoanatomia e fisiologia de *Jacaranda puberula* Cham. (Bignoniaceae) em condições de hipoxia. *Revista brasileira de Botânica*. 19:215-220.
- [17] MEDRI, M.E., BIANCHINI, E., PIMENTA, J.A., DELGADO, M.F. & CORREA, G.T. 1998. Aspectos morfo-anatômicos e fisiológicos de *Peltophorum dubium* (Spr.) Taub. submetida ao alagamento e à aplicação de etrel. *Revista brasileira de Botânica*. 21:261-267.
- [18] VITORINO, P. F. P. G. 1999. *Caracterização da tolerância da variedade de milho Saracura- BR 154 a hipoxia, efeito do cálcio e modificações da parede celular*. Lavras, 49p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.

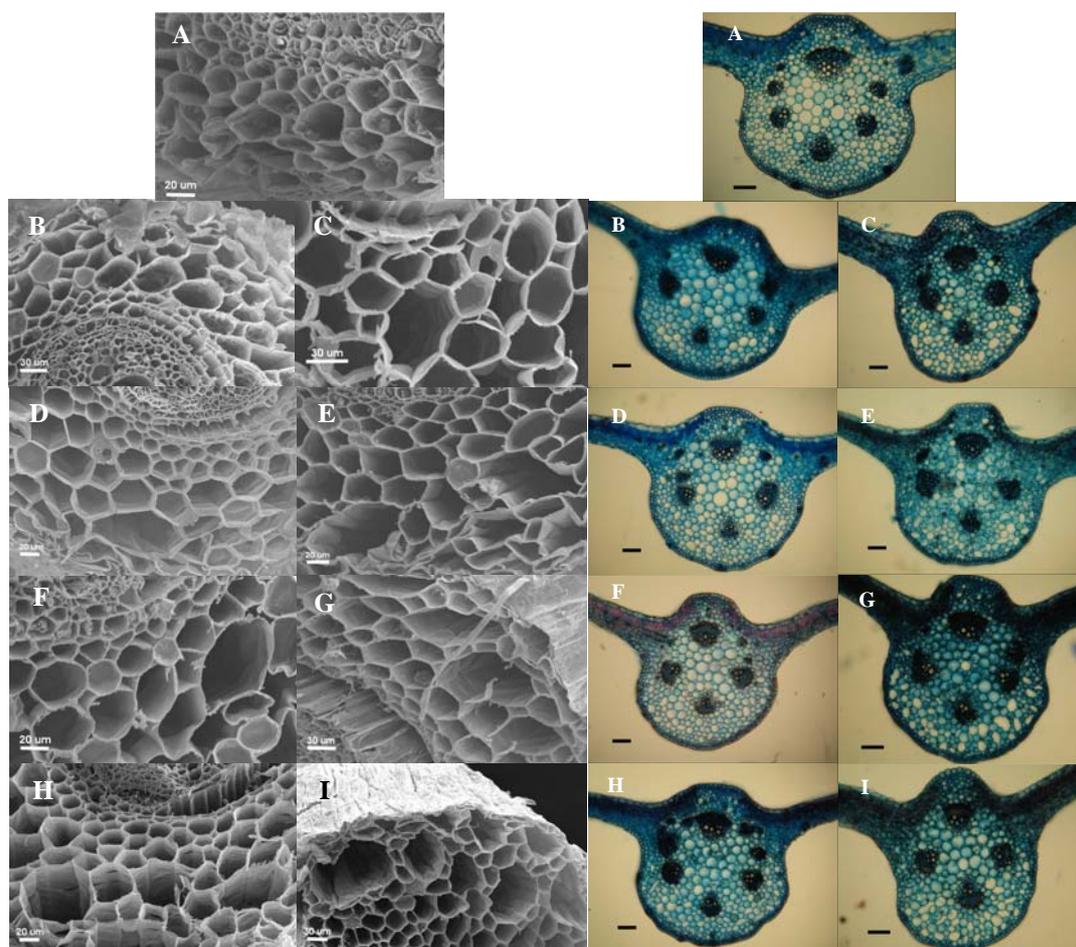


Figura 1 - Eletromicrografias de varredura de seções transversais de raízes de erva-de-bicho submetidas ao alagamento na presença (+) e ausência (-) de cálcio por diferentes períodos. A) Testemunha; B) 1 dia + Ca⁺⁺; C) 1 dia - Ca⁺⁺; D) 3 dias + Ca⁺⁺; E) 3 dias - Ca⁺⁺; F) 5 dias + Ca⁺⁺; G) 5 dias - Ca⁺⁺; H) 7 dias + Ca⁺⁺; I) 7 dias - Ca⁺⁺.

Figura 2 - Seções transversais da lâmina foliar de erva-de-bicho submetidas ao alagamento na presença (+) e ausência (-) de cálcio por diferentes períodos. Barras = 100 µm. A) Testemunha; B) 1 dia + Ca⁺⁺; C) 1 dia - Ca⁺⁺; D) 3 dias + Ca⁺⁺; E) 3 dias - Ca⁺⁺; F) 5 dias + Ca⁺⁺; G) 5 dias - Ca⁺⁺; H) 7 dias + Ca⁺⁺; I) 7 dias - Ca⁺⁺.

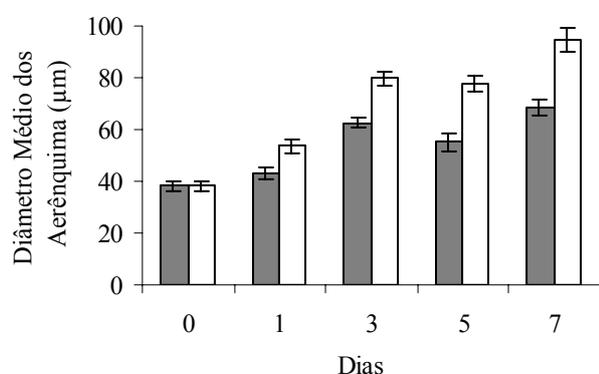


Figura 3 - Diâmetro médio das cavidades de aerênquimas de raízes de erva-de-bicho submetidas a diferentes períodos de alagamento na presença (■) e ausência (□) de cálcio. As barras representam o erro padrão da média de 10 repetições.

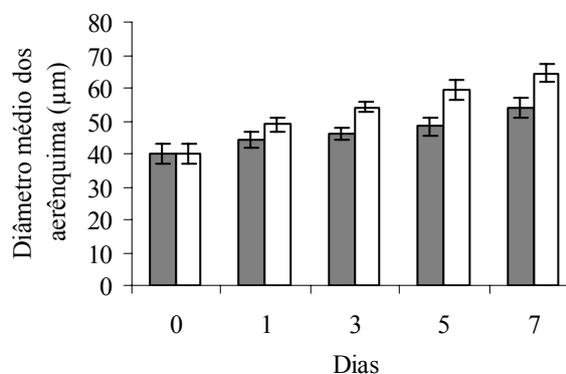


Figura 4 - Diâmetro médio das cavidades de aerênquimas de folhas de erva-de-bicho submetidas a diferentes períodos de alagamento na presença (■) e ausência (□) de cálcio. As barras representam o erro padrão da média de 10 repetições.