



# PLASTICIDADE ANATÔMICA DAS FOLHAS DE MILHO *ZEA MAYS* (POACEAE) NA ADAPTAÇÃO EM AMBIENTES ALAGADOS.

Fabricio José Pereira<sup>1</sup>

Evaristo Mauro de Castro<sup>1</sup>; Thiago Corrêa de Souza<sup>1</sup>; Paulo César Magalhães<sup>2</sup>; Samara Arcanjo e Silva<sup>1</sup>

1 - Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Lavras - MG, caixa postal 37, CEP 37200 - 000. 2 - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG, Caixa postal - 151, CEP 37701 - 970. TEL: 35 3829 1612-fjprock@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Fatores ambientais podem gerar prejuízos à agricultura devido a uma diminuição na produção vegetal. Um fator que está presente em diferentes biomas é o alagamento, podendo ocorrer no Brasil em florestas de galeria, no Pantanal e nos chamados solos de várzea (Andrade *et al.*, 1999). O alagamento pode ocorrer de forma natural ou antrópica, podendo ser permanente ou temporário ocorrendo devido ao regime pluvial, irrigação excessiva, baixa drenagem ou compactação do solo (Kozłowski, 1997).

As adaptações das plantas nessas condições podem ocorrer na fisiologia com alterações das rotas bioquímicas, que podem levar a uma menor produção de ATP principalmente pela redução na disponibilidade de O<sub>2</sub> (Dew, 1997). As modificações anatômicas mais comuns em plantas sob alagamento são a formação de aerênquima na raiz e parte aérea da planta (Kozłowski, 1984), modificações no diâmetro dos vasos (Vaselatti *et al.*, 001; Pereira *et al.*, 008) além de um aumento na porosidade das raízes (Insausti *et al.*, 001). As modificações de tecidos foliares são pouco estudada em comparação com as modificações na raiz, algumas alterações relatadas para as folhas podem ser quanto ao número de folhas nas plantas sob alagamento e redução da fotossíntese líquida, parcialmente atribuídas à modificações na área foliar (Núñez - Elisea *et al.*, 999).

A capacidade de produzir modificações morfológicas nas plantas sob alagamento pode ser aumentada utilizando - se a seleção genética. São relatados efeitos da seleção genética na geração F1 em relação aos parentais em genótipos de *Isis* sp. (Johnston, *et al.*, 004).

## OBJETIVOS

Este trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar a melhoria das condições de estrutura e de função das folhas do milho Saracura submetido ao alagamento intermitente, ao longo de sucessivos ciclos de seleção, verificando quais

os ganhos reais para este órgão e como este incremento pode otimizar a adaptação desta variedade em condições alagadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Procedimento experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação nas áreas experimentais da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG e, as análises anatômicas no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG. O milho Saracura está, atualmente, no seu 18<sup>o</sup> ciclo anual de seleção, esses ciclos são iniciados anualmente, quando as plantas em estádio de seis folhas (V6) são submetidas ao alagamento controlado no campo e, as cariopses das plantas com os melhores resultados plantadas no ano seguinte (Alves *et al.*, 002). Nesse experimento, os ciclos foram codificados como C1 a C18.

Foram utilizados vasos de 20 L. preenchidos com solo de várzea (planosolo hidromorfo eutrófico arênico) adubado corrigido com: 0,075 g.Kg - 1 de sulfato de amônia em duas aplicações semanais, 0,0333 g.Kg - 1 de uréia em quatro aplicações semanais, 0,3 g.Kg - 1 de Zn (Ferrer *et al.*, 005). Os ciclos escolhidos foram C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18, além do genótipo BR 107, sensível ao alagamento como testemunha. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, num total 48 de vasos. Foram semeadas seis cariopses por vaso no plantio, desbastando - se, mais tarde, para duas plantas.

O início do encharcamento no solo dos vasos foi no estádio V6, quando o meristema apical do caule das plantas se encontrava acima do nível da superfície do solo. A adubação em cobertura foi realizada na dosagem de 100 kg ha - 1 de N, divididos em 10 aplicações semanais de 10 kg ha - 1 de N, (Ferrer *et al.*, 2005). O encharcamento foi realizado a cada dois dias, os vasos eram encharcados e deixados sem nova aplicação de água por 48 h. A coleta das amostras

para anatomia ocorreu 60 dias meses depois da primeira aplicação do encharcamento.

#### análise anatômica

Foi utilizada uma planta de cada vaso para a coleta de uma amostra na região do terço médio de duas folhas completamente expandidas, uma imediatamente acima da primeira folha que exibiu sinais de estresse e outra a dois nós acima. Estes fragmentos das folhas foram fixados em FAA 70 (Johansen, 1940), por 48 horas e, posteriormente, preservados em etanol 70%, até a data das análises. Com o auxílio de micrótomo de mesa, foram realizados cortes transversais nas amostras de folhas e, ainda, cortes manuais paradérmicos das faces abaxial e adaxial das folhas (Melo *et al.*, 008). Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio 5%, por 10 minutos (Kraus & Arduin, 1997), reidratados por 10 minutos, os cortes transversais corados com astrablau (solução de safranina e azul de astra 7,5:2,5) e os cortes paradérmicos corados com safranina 2% e montados em lâminas com glicerina 50%.

As lâminas foram observadas em microscópio óptico acoplado à câmera digital, com a qual foram realizadas fotografias dos cortes. As fotografias foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos sendo: EAD= Espessura da epiderme adaxial, EAB espessura da epiderme abaxial, MF espessura do mesófilo, FAB= espessura das fibras na face abaxial, FDB= espessura das fibras na face adaxial, DE= densidade estomática nº por mm<sup>2</sup>, IE=índice estomático na face adaxial, FUN funcionalidade estomática, POL= diâmetro polar dos estômatos da face adaxial, NF= número de feixes vasculares, NV= soma do número de vasos de xilema nos feixes, DV= diâmetro dos vasos de xilema, IVC= índice de vulnerabilidade de Carlquist, FL= espessura do floema nos feixes vasculares, CP= diâmetro das células parenquimáticas, EC= espessura do esclerênquima da nervura central. CT= cutícula, EA= epiderme adaxial, MF= mesófilo, FV= feixe vascular, EB= Epiderme abaxial, ES= estômato, NCB= número de células buliformes a cada 2 mm, DCB= diâmetro polar das células buliformes. As características anatômicas foram medidas em um software de análise de imagem UTHSCSA - imagetool calibrado com uma régua micrométrica fotografada nos mesmos aumentos das fotografias. Foram realizadas 4 medições de cada característica anatômica em cada repetição e utilizada a média para definir o valor da característica para cada planta. Nas medições dos estômatos, foram utilizadas as médias das medições de 5 estômatos por repetição.

Foi realizada análise de variância com o teste de F, para detectar as diferenças entre os tratamentos e o teste de Skott - Knott, a 5%, para o estudo das diferentes médias.

## RESULTADOS

A DE foi alterada na face adaxial das folhas do milho Saracura, em comparação com a testemunha e, se comparados os últimos ciclos com os iniciais. Houve um aumento em 61% nos últimos ciclos (C15 a C18) e de 104% no C13, em relação ao grupo controle e aos ciclos iniciais de seleção. Todos esses valores estão acima da média observada para os estômatos em uma folha completamente expandida de milho sob condições normais, que é de 30 a 50 estômatos

por mm<sup>2</sup> (Kolodziejek *et al.*, 006). As plantas que estão sob estresse por alagamento podem exibir inibições na taxa fotossintética causada pela diminuição da quantidade de CO<sub>2</sub> encontrada nas plantas nessas condições (Kozłowski, 1997). Dessa forma, pode - se observar que um aumento na densidade estomática pode promover um incremento na área disponível para trocas gasosas e, assim, disponibilizar maior quantidade de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese. Portanto, um aumento na densidade estomática é um fator adaptativo interessante para plantas sob alagamento e seu incremento pode ser considerado um avanço genético, promovido pelos sucessivos anos de seleção, melhorando a adaptabilidade e constituindo uma característica desejável nas plantas desta variedade.

A FUN foi aumentada nos últimos ciclos em relação à variedade BR 107 e no último ciclo em relação aos primeiros e ao híbrido BRS 1010. Este é outro fator que pode ser relacionado com a otimização da captação de CO<sub>2</sub> pelas folhas, pois estômatos mais funcionais permitem a captação deste gás com uma abertura menor ou mais rápida.

O mesmo pode ser observado quanto ao aumento no POL dos estômatos nesse parâmetro, pois está diretamente relacionado com uma maior funcionalidade dos estômatos e o seu aumento de 16% na face abaxial e de 14% na adaxial pode ser relevante para uma melhor adaptação do milho Saracura ao longo dos ciclos sucessivos de seleção. Todo este investimento para a captação de CO<sub>2</sub> é importante na produção de carboidratos pela fotossíntese, os quais serão utilizados para a produção de ATP, que possibilitará a manutenção da planta no ambiente alagado (Taiz & Zeiger, 2004).

O NF nervura central foi aumentado, nos ciclos de seleção do milho Saracura, em 62%, comparando - se os últimos ciclos em relação com o BRS 1010 e 44% em comparação com os primeiros ciclos de seleção. O aumento do número de vasos do xilema é um fator que está associado à proteção do sistema hidráulico da planta, pois pode preservar a condutividade hidráulica por compensar os vasos que estão com cavitação por aqueles em perfeito estado, um fato associado a plantas de ambientes xéricos ou sob estresse (Denardi & Machiori, 2005). Contudo, o NF pode também estar relacionado a uma melhor distribuição da água no mesófilo e, certamente, com a proteção do sistema hidráulico da planta, evitando a cavitação (Sack & Holbrook, 2006). Com estas informações pode - se considerar o aumento no NF e NV como uma adaptação à condição de estresse por alagamento por melhorar a condutividade hidráulica da folha e da planta como um todo, ocorrendo ao longo dos sucessivos ciclos de seleção do milho saracura.

A diminuição de 35% em relação ao grupo controle e a de 29% em relação aos primeiros ciclos do DV observados na nervura central das folhas de milho Saracura sob alagamento estão também diretamente relacionadas à preservação do sistema vascular, quanto à condutividade hidráulica. A diminuição do diâmetro dos vasos é uma característica que evita a cavitação, por proporcionar melhor condução da água ao longo dos vasos do xilema, que segue o fluxo transpiratório, tocando as paredes dos elementos de vaso do xilema, impedindo, assim, a formação de espaços por onde o ar pode penetrar e formar bolhas

(Hacke & Sperry, 2001). Dessa forma, observa-se que ocorreu uma diminuição no IVC ao longo dos ciclos, ilustrando a melhoria na proteção do sistema condutor das folhas das plantas de milho Saracura ao longo dos ciclos de seleção. Estes fatos são importantes para a caracterização de plantas que são favoráveis à adaptação ao solo alagado, pois alguns dos primeiros problemas ocorrerão no sistema hidráulico da planta que, se prejudicado, afetará toda a sua fisiologia. Portanto, os últimos ciclos de seleção demonstram uma melhoria em relação aos iniciais.

Ainda associados aos feixes vasculares pode-se observar um aumento na FL dos últimos ciclos de seleção em 35% em relação aos primeiros ciclos e à variedade BR 107. Este favorecimento do floema ocorre devido a uma necessidade das plantas de manterem níveis adequados de carboidratos para serem utilizados como substrato do metabolismo aeróbio e anaeróbio, principalmente na raiz (Liao & Lin, 2001). O aumento da espessura do floema pode ser relacionado à melhoria do sistema vascular para ao fluxo de fotosintatos da folha para o restante da planta, melhorando o transporte e, conseqüentemente, possibilitando que toda a planta se adapte ao estresse.

Houve redução da EAD (14,45%) bem como na EAB (26,0%) dos últimos ciclos de seleção, em relação às testemunhas. Houve também redução de 21% na MF ao longo dos ciclos de seleção. Estes resultados contribuíram para uma redução de 20,75% na espessura total das folhas do ciclo C18, em relação às testemunhas, demonstrando uma significativa alteração nesta característica. Os efeitos da redução do limbo foliar na fisiologia da planta são discutidos principalmente quanto à função de aproveitamento da energia luminosa pela fotossíntese.

Ocorreu redução de 32% na FDB dos feixes vasculares foliares e de 29,9% na FDA dos ciclos de seleção, em relação ao híbrido BRS 1010. Esta redução possibilita a formação de tecidos vasculares, como o floema, que teve aumento de 11% nos últimos ciclos. Este aumento na espessura do floema, como já discutido para a nervura central, aumenta a capacidade de condução dos fotosintatos para o restante da planta, ajudando na sobrevivência da mesma e melhorando sua capacidade para a produção de grãos.

## CONCLUSÃO

Os dados demonstram que houve evolução na estrutura das folhas de plantas de milho Saracura ao longo dos ciclos de seleção. Esta evolução foi progressiva nos parâmetros analisados, demonstrando que os últimos ciclos de seleção são morfológicamente mais aptos a preservar a fotossíntese, a condutividade hidráulica e o transporte no floema das plantas, em relação aos ciclos anteriores.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de mestrado. À Embrapa Milho

e Sorgo e Fapemig pelo financiamento do projeto.

## REFERÊNCIAS

- Alves, J. D.; Magalhães, M. M.; Goulart, P. F. P.; Dantas, B. F.; Gouvêa, J. A.; Purcino, R. P.; Magalhães, P. C.; Fries, D. D.; Livramento, D. E.; Meyer, L. E.; Seiffert, M.; Silveira, T. 2002. Mecanismos de tolerância da variedade de milho "Saracura" (BRS 4154) ao encharcamento. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 1: 33 - 40.
- Andrade, A. C. S.; Ramos, F. N.; Souza, A. F.; Loureiro, M. B.; Bastos, R. 1999. Flooding effects in seedlings of *Cyatharexylum myrianthum* Cham. and *Genipa americana* L.: responses of two neotropical lowland tree species. *Revista brasileira de Botânica*, 22: 281 - 285.
- Denardi, L.; Machiori, J. N. C. 2005. Anatomia Ecológica da Madeira de *Blepharocalyx salicifolius* (H. B. K.) Berg. *Ciência Florestal*, 15: 19 - 127.
- Hacke, U. G.; Sperry, J. S. 2001. Functional and Ecological Xylem Anatomy. perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 4:97 - 115.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. 2. ed. New York: Mc Graw - Hill, 300 p.
- Kolodziejek, I.; Waleza, M.; Mostowska, A. 2006. Morphological, histochemical and ultrastructural indicators of maize and barley leaf senescence. *Biologia Plantarum*, 50: 565 - 573.
- Kozłowski, T. T. 1984. Plant Responses to Flooding of Soil, *BioScience*, 34: 162 - 167.
- Kozłowski, T. T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity, *Tree Physiology Monograph*, Victoria, 1: 1 - 29.
- Kraus, J. E.; Arduim, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 221 p.
- Liao, C. T.; Lin, C. H. 2001. Physiological Adaptation of Crop Plants to Flooding Stress, *Proceedings of National Science Council*, 25: 148 - 157.
- Melo, H. C.; Castro, E. M.; Soares, A. M.; Melo, L. A.; Alves, J. D. 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea*, 34: 145 - 153.
- Núñez - Elisea, R.; Schaffer, B.; Fisher, J.B.; Colls, A.M.; Crane, J.H. 1999. Influence of Flooding on Net CO<sub>2</sub> Assimilation, Growth and Stem Anatomy of *Annona* Species, *Annals of Botany*. 84: 771 - 780.
- Pereira, F.J.; Castro, E.M.; Souza, T.C.; Magalhães, P.C. 2008. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos, *Pesquisa agropecuária Brasileira*, 43: 1649 - 1646.
- Sack, L.; Holbrook, N. M. 2006. Leaf Hydraulics. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 61-81.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 1998. *Plant Physiology*. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 672 p.