

ESTUDO DA MORFOMETRIA ESTOMÁTICA DE EUCALYPTUS GRANDIS

Suelen Martinez Guterres ¹

Denise Czarneski da Silva ²

Ferdinando Bisogno de Castro ³

João Rafael Goulart da Silva ⁴

Valdir Marcos Stefenon ⁵

Paulo Roberdo Diniz da Silva ⁶

Resumo:

A família Myrtaceae é distribuída pelas regiões tropicais e subtropicais da Austrália, Ásia e Américas. No Brasil, foram registrados 23 gêneros e 997 espécies, dentre os gêneros, Eucalyptus apresenta espécie Eucalyptus grandis W. Hill (ex Maiden), é uma árvore que possui potencial madeireiro e fonte de celulose. Portanto, a adaptação regional é necessária desenvolver novas cultivares. O estudo de características morfométricas estomáticas pode auxiliar na produção de mudas uniformes com qualidade fitossanitária. O presente trabalho objetivou analisar as medições polares, equatoriais e excentricidades para estômatos abaxiais e adaxiais de Eucalyptus grandis. Foram analisadas 4 árvores do campus São Gabriel da Universidade Federal do Pampa, coletadas 2 folhas adultas por árvore e foram escolhidos 3 campos medianos abaxiais e, adaxiais aleatoriamente por folha e foram medidos 192 estômatos. Os cortes histológicos foram tratados com solução de 10% de hidróxido de sódio, montadas em gelatina glicerizada, estas visualizadas no microscópio de luz IMAGER A2 Zeiss e fotografadas em 400X. Os dados foram analisados pelo o programa Statistic 7.0 e foram comparadas pelo teste de Tukey (p 0,05). As análises demonstraram que as partes adaxiais e abaxiais para as medições polares e equatoriais não apresentaram diferenças significativas entre cada medição. As médias de excentricidade abaxial e adaxial demonstraram diferenças significativas entre mesmas. Concluímos que as interações das medidas demonstraram que os diâmetros estomáticos polares e equatoriais, as excentricidades abaxiais e adaxiais podem atuar como marcadores morfométricos e ecofisiológico para análises de Eucalyptus grandis para o Campus de São Gabriel.

Palavras-chave: Estômatos, morfometria, Myrtaceae

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

ESTUDO DA MORFOMETRIA ESTOMÁTICA DE EUCALYPTUS GRANDIS

¹ Aluno de graduação. suelen_guterres@yahoo.com.br. Autor principal

² Aluna. denise.czak@gmail.com. Co-autor

³ Aluno. ferdibisogno12@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno . raafaelgoulart5@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. valdirstefenon@unipampa.edu.br. Orientador

⁶ Aluno. paulorobertodinizdasilva@gmail.com. Co-orientador

ESTUDO DA MORFOMETRIA ESTOMÁTICA DE *EUCALYPTUS GRANDIS*

1 INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae possui 130 gêneros com 4000 espécies de arbustos e árvores (SOUZA, LORENZI, 2005), predominantemente de regiões tropicais e poucas distribuídas nas subtropicais (BARROSO, 1999). Nesta, o gênero *Eucalyptus* apresenta a cerca de 700 espécies e subespécies, e demonstra uma ampla plasticidade e dispersão mundial, crescendo em diferentes situações climáticas, extrapolando àquelas das regiões de origem.

Atualmente, é o gênero mais plantado no mundo, cultivado em aproximadamente 60 países. Contudo, menos de 1% das espécies de *Eucalyptus* são utilizadas com propósitos industriais. Desta maneira, a utilização mundial do eucalipto na indústria é baseada em *E. globulus*, *E. grandis* e seus híbridos (MCT, 2005).

O Brasil é o segundo país que mais cultiva esse gênero, devido alguns itens: o rápido crescimento volumétrico, a madeira de qualidade e de facilidade de propagação vegetativa. Algumas espécies apresentam tolerância a geadas como as espécies de *Eucalyptus benthamii* e *Eucalyptus dunni* (FILHO, SANTOS, 2011), e a solos salinos. Atualmente, tornou-se a melhor opção para a produção de papeis de impressão, escrita, sanitário e cartão.

A alta utilização do eucalipto nos reflorestamentos brasileiros é favorecida pela excelente adaptação das árvores, dentre suas diversas espécies, às condições de clima e de solos do Brasil. O aumento da produtividade foi alcançado pelo melhoramento genético tradicional com híbridos intra e entre espécies, através de clonagem e Cultura de Tecidos Vegetais. Este melhoramento é baseado em seleção de árvores superiores, áreas para produção de sementes, hibridização interespecífica e a seleção de mudas nos viveiros (FERREIRA; SANTOS, 1997).

A baixa disponibilidade de água no solo, e a falta de alguns nutrientes tem relação direta com sensibilidade dos estômatos, (BRUNINI, CARDOSO, 1998) como, na cultura de tecidos, todos os nutrientes essenciais para o bom desenvolvimento da planta estão disponíveis, espera-se observar algumas mudanças no comportamento estomático.

Os estômatos, nada mais são que, aberturas na epiderme, formadas pelas duas células especializadas e as células circundantes, respectivamente, as células-guarda e as células subsidiárias (ESAU, K. 1974). O conjunto dos dois tipos celulares é chamado de complexo estomático e o funcionamento das células-guarda através mudança de pressão hídrica que influencia conformação estrutural, de modo que ocasionam a abertura ou fechamento do ostíolo (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, 2003).

O presente trabalho teve por finalidade relacionar os diâmetros polares, equatoriais e excentricidades com morfometrias estomáticas abaxiais e adaxiais de *Eucalyptus grandis* W. Hill Ex.Maiden para campus São Gabriel da Universidade Federal do Pampa.

2 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Centro Interdisciplinar de Pesquisas em Biotecnologia da UNIPAMPA (São Gabriel-RS) durante os anos 2016 e 2017. Foram analisadas 4 árvores do campus São Gabriel da Universidade Federal do Pampa, com distância aproximada de cinco metros entre elas. Dessas foram obtidas e escolhidas aleatoriamente 2 folhas adultas, nas partes médias dos ramos, cada árvore e cada folha, foram escolhidos 3 campos medianos abaxiais e adaxiais aleatoriamente por folha. Para cada campo mediano foi confeccionada uma lâmina histológica e destas foram escolhidos e medidos 96 estômatos por face foliar, totalizando 192 estômatos para análises morfométricas.

Para os estudos anatômicos, as folhas adultas foram coletadas na parte média de galhos de árvores. Essas foram incisadas na região mediana foliar, e divididos em 4 pedaços,

retirando a nervura central foliar (Figura 02). Destes fragmentos foliares próximos das regiões das nervuras centrais, os dois melhores foram escolhidos e marcados com caneta preta nas partes abaxiais. Estes foram utilizados para os cortes paradérmicos das faces abaxiais e adaxiais.

Os pedaços foliares foram dissociados em 50% de solução de ácido nítrico a 90° C (JOHANSEN, D. A., 1940; modificado por KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. 1997) e, corados em solução de 10% de hidróxido de sódio (SILVA, P.R.D. et al. 2016). As lâminas foram montadas com 50% de glicerina gelatinizada (KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. 1997). Foram selecionados 4 campos para capturas microfotográficas por pedaço foliar.

Os diâmetros polar e equatorial dos estômatos foram obtidos para as microfotografias com objetiva de aumento 400 x, utilizando-se o microscópio de luz IMAGER A2 e câmara AXIOCAM ERC5S (Carl Zeiss, Germany) e as imagens foram capturadas com programa AXIOVISION SE64 REL.4.9.1(Carl Zeiss - Germany), em arquivos TIFF e JEGP, utilizando o software AXIO VISION SE64 REL.4.9.1 Zeiss e analisadas com software Image Pro Plus.

A escolha dos ramos e das coletas de folhas maduras nas árvores foram acaso, com quatro repetições de 30 plantas cada tratamento. Os dados da morfometria foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) para análises estomáticas, utilizando os programas Statistic 7.0. Os dados das contagens foram transformados pela equação $(X+0,5)^{1/2}$ e os da porcentagem, pela equação $\arcsen (X/100)^{1/2}$.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Conforme observado na figura 03 e 04, as microfotografias de estômatos com objetiva de aumento 400 x, utilizando-se o microscópio de luz IMAGER A2 e câmara AXIOCAM ERC5S (Carl Zeiss, Germany) apresentaram ótimas definições para as análises morfométricas estomáticas.

Figura 03: Os estômatos da face abaxial (ABX) de *Eucalyptus grandis* (400 X).

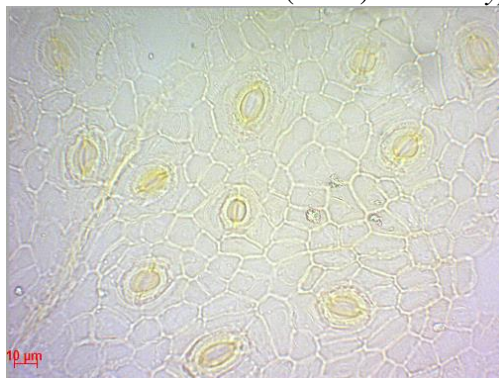
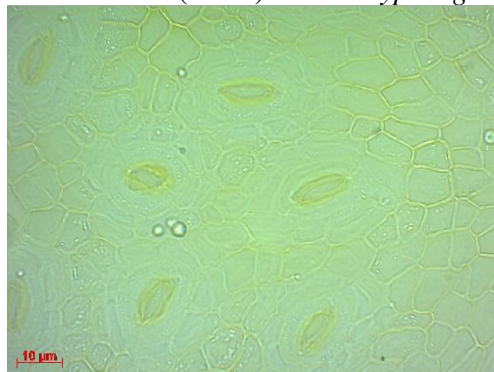


Figura04: Os estômatos da face adaxial (ADX) de *Eucalyptus grandis*.



Para as médias dos diâmetros polares entre medidas adaxiais (53,1µm) e abaxiais (51,8 µm) e as médias dos diâmetros equatoriais para adaxiais (38,0 µm) e as abaxiais (37,3 µm), para as

ambos diâmetros de cada face não houve diferença significativa (Figuras 05 e 06). Este trabalho corroborou com Oliveira e Migliomanza (2014) que relataram a existência de interação de fatores como as variações ambientais e as regiões foliares; porém os diâmetros equatorial e polares, e funcionamento demonstraram somente efeito isolado de variedade de *Manihot esculenta* Crantz. Santana et al. (2008) informaram que *Annona bahiensis*, *Annona cauliflora*, *Annona glabra* e *Annona squamosa* apresentaram menor diâmetro polar e equatorial durante o cultivo in vitro e estômatos ficaram mais esféricos devido ao microclima do tubo de ensaio.

Figura 05: Médias dos diâmetros polares das faces abaxiais e adaxiais de *E. grandis*.

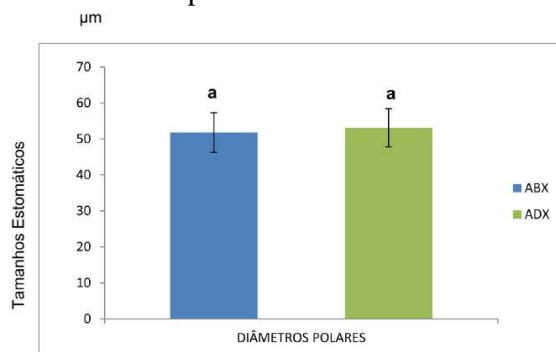
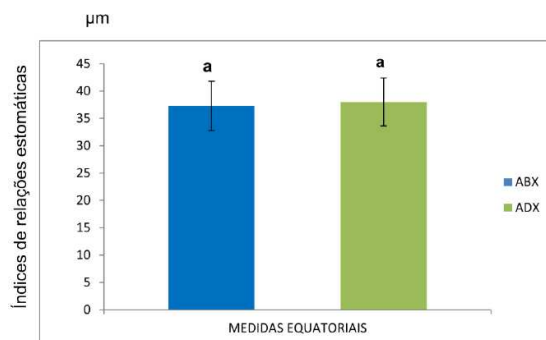
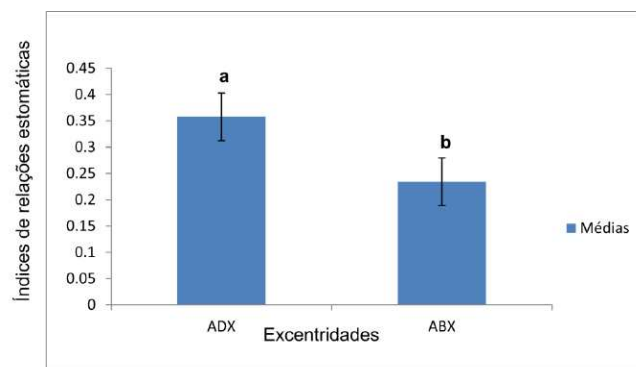


Figura 06: Médias dos diâmetros equatoriais das faces abaxiais (ABX) e adaxiais (ADX) de *E. grandis*.



No presente trabalho, as médias de excentricidade (ϵ) foram de 0,358 para amostras foliares adaxiais e 0,234 para as abaxiais. Valores abaixo de 0,50 indicam que o formato dos estômatos tendeu para a forma arredondada ($0 < \epsilon \leq 1$), que caracterizou baixa funcionalidade morfológica do complexo estomático. Porém, a análise de variância entre as médias das excentricidades adaxial e excentricidade abaxial apresentou diferença significativa (Figura 07). Logo, nas posições adaxiais, as partes foliares sofrem maiores influências dos ventos e das temperaturas devido aos microclimas foliares que aumentam a transpiração e a vaporização do que posições abaxiais. Isto acarretou em 52% no aumento da média da excentricidade adaxial. No trabalho de Khan et al. (2002), foi relatado que o formato elíptico resulta da relação entre os diâmetros polares e equatoriais. Tais características sugerem uma maior funcionalidade desses estômatos e o que corroboraram com o estudo de Zobayed et al. (2001) que apresentaram medidas de estômatos na epiderme abaxial das folhas de ápices recolhidos de mudas de eucaliptos.

Figura 07: Médias das excentricidades e a variância das faces adaxiais (ADX) e abaxiais (ABX) de *Eucalyptus grandis*.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As interações dos resultados demonstraram que os diâmetros estomáticos polares e equatoriais, as excentricidades foliares abaxiais e adaxiais podem ser utilizados como marcadores morfométricos e ecofisiológicos para análises de *Eucalyptus grandis*.

REFERÊNCIAS

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Anatomia vegetal. Viçosa: Editora UFV, 438 p., 2003.

BRUNINI, Orivaldo; CARDOSO, Mário. Efeito do déficit hídrico no solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 7, p. 1053-1060, 1998.

ESAU, K. Anatomia das plantas com sementes. BERTA, L. de M. (trad.) São Paulo: Editora Edgard Blcher Ltda. 293 p. 1974.

FERREIRA, M.; SANTOS, PET dos. Melhoramento genético florestal dos Eucalyptus no Brasil: breve histórico e perspectivas. In: **IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts**. 1997. p. 14-34.

FILHO, E.P.; SANTOS, P. E.T. dos S. **Programa de melhoramento genético de eucalipto da Embrapa Florestas: resultados e perspectivas**. Colombo-PR. Embrapa Florestas. 63 p. 2011. Disponível em: < <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/doc214.pdf>.> Acesso em 04/09/2018.

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

JÚNIOR, J.S. de L. et al. **Pitangueira**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, 87 p, 2007.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. EDUR. 198 p., 1997.

KHAN, P.S.S.V., KOZAI, T., NGUYEN, O.T., KUBOTA, C. e DHAWAN, V. (2002) **Growth and water relations of Paulownia fortunei under photomixotrophic and photoautotrophic conditions**. *Biologia Plantarum*. 46:161-166.

MCT - MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA. Disponível em: < <http://www.mct.gov.br>> Acesso em: 04/09/2018.

OLIVEIRA, E.C.; MIGLIOMANZA, É.. Dimensões e densidade estomática em diferentes variedades de mandioca. **Cultivando o Saber**. Cascavel, v.6, n.4, p.201-213, 2013.

SANTANA, J. R.F. et al. Anatomia foliar de seis espécies de anonáceas cultivadas in vitro e em casa de vegetação. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.38, n.8, p.2362-2365, nov. 2008. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n8/a43v38n8.pdf>>. Acesso em 03/09/2018.

SILVA, P.R.D. da et al. **A New Aprooch for light Microscopy Studies of Stomatal Complex using Sodium Hidroside Staining**. American Reserch Journal of Bio Sciences (ARJB). Disponível em: < <https://www.arjonline.org/papers/arjb/v2-i1/2.pdf> >. Acesso em; 04/09/2018.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseada em APG II**. Nova Odessa- SP : Instituto Plantarum. p. 160-162 . 2005.

ZOBAYED, S. M.A.; AFREEN, F. ; KOZAI, T. Physiology of Eucalyptus plantlets grown photoautotrophically in a scaledúp Vessel. **In vitro Cell. Dev. Biol. Plant**. 37: 807- 813, november-december 2001.