

DENSIDADE ESTOMÁTICA E COMPRIMENTO DAS CÉLULAS-GUARDA AO LONGO DA FOLHA EM *Myrciaria dubia* E *Eugenia stipitata* EM RESPOSTA À ALTA IRRADIÂNCIA.

Priscila Soares LIMA¹; Ricardo Antonio MARENCO²

¹Bolsista PIBIC/FAPEAM/INPA; ²Orientador CPST/INPA

1. Introdução

Os estômatos, pequenos orifícios que ocorrem principalmente nas superfícies foliares, são responsáveis pelas trocas gasosas entre a planta e a atmosfera. Os principais gases trocados pelos estômatos são o CO₂ e o vapor de água (Hetherington e Woodward, 2003). Os estômatos são constituídos por um par de células-guarda delimitando o poro estomático. Os estômatos podem ser circundados por células que não se diferem das demais, estômatos anomocíticos, ou por células diferentes, denominadas de células subsidiárias ou anexas (Esau, 1960). As células subsidiárias, próximas às células-guarda, são células especializadas da epiderme e tanto as células-guarda, quanto as células subsidiárias estão envolvidas no processo de abertura e fechamento dos estômatos.

A maioria das plantas herbáceas possui estômatos em ambas as faces foliares, na superfície superior ou adaxial (dorsal) e na superfície inferior ou abaxial (ventral), mas normalmente estão situados na face abaxial. Folhas que apresentam estômatos em ambas as faces são denominadas de anfistomáticas; aquelas com estômatos somente na face inferior ou abaxial são chamadas de hipostomáticas; e as espécies com estômatos unicamente na face superior ou adaxial da folha são designadas de epistomáticas. As folhas não são condutoras eficientes de calor; por isso, durante o dia, a face adaxial normalmente aquece-se mais do que a abaxial, o que tende a aumentar a transpiração na face adaxial, exposta diretamente à radiação solar (Marenco e Lopes, 2009). Desse modo, as espécies com folhas anfistomáticas tendem a perder mais água por meio da transpiração do que as folhas hipostomáticas quando o suprimento de água é adequado.

Existem dois tipos de estômatos em relação ao formato das células-guarda: reniforme e em formato de haltere, o mais comum, reniforme, está presente nas dicotiledôneas. E, geralmente, os estômatos das monocotiledôneas têm formato de haltere (Esau, 1960).

A densidade estomática (DE, quantidade de estômatos por mm² da folha) pode ser influenciada por fatores ambientais e genéticos (Hetherington e Woodward, 2003). Assim, normalmente, as folhas que se desenvolvem em ambientes ensolarados possuem maior densidade de estômatos do que as encontradas em ambientes sombreados, pois a alta intensidade de luz durante o crescimento aumenta a frequência estomática, podendo não haver nenhuma mudança no comprimento do poro estomático ou no tamanho da células-guarda (CG) (Boardman, 1977). Porém, o caso mais comum é que o aumento da densidade estomática seja acompanhado por uma diminuição do tamanho das células-guarda (Hetherington e Woodward, 2003).

A perda de água que ocorre via estômatos é ecologicamente importante, pois de um terço a cerca da metade da precipitação anual na Amazônia provém de vapor d'água transpirado na própria floresta (Salati e Marques, 1984). Além disso, os estômatos participam na fixação de carbono, pois é através dos estômatos que é absorvido a maior parte do carbono assimilado pela planta. Isto porque a cutícula que reveste a superfície da folha é praticamente impermeável à entrada de CO₂ (Marenco e Lopes, 2009). Assim sendo, os objetivos deste trabalho foram determinar o efeito da irradiância na DE e no comprimento das CG em duas espécies da Amazônia, bem como determinar como DE varia ao longo do limbo foliar.

2. Material e Métodos

Material vegetal e área de estudo - No estudo foram utilizadas mudas de camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B.K., Myrtaceae) e de araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVough, Myrtaceae) localizadas no INPA-V8 (03° 05' 30" lat Sul; 59° 59' 35" long O; altitude de 92,9m). O camu-camu é uma frutadeira nativa que ocorre, principalmente, nas margens de rios e lagos inundáveis da Amazônia e pode ser usado para fabricar concentrados de vitamina C, pois possui alto teor de ácido ascórbico nos frutos, cerca de 28 g kg⁻¹, ou seja, duas vezes o teor de ácido ascórbico da acerola (13 g kg⁻¹) e, aproximadamente, 63 vezes mais que o do limão (0,44 g kg⁻¹). Em função disto, o camu-camu é muito apreciado (Bravo, 2007; Maués & Couturier, 2002). O araçá-boi também possui fruto bastante apreciado. Podendo ser aproveitado industrialmente na fabricação de sucos sorvetes,

doces, cremes (Falcão *et al.*, 1999). As plantas de cada uma destas espécies foram submetidas a dois tratamentos de irradiância (alta irradiância e controle).

Tratamentos – Para o tratamento de alta irradiância utilizaram-se três mudas de cada espécie, elas foram expostas ao sol (luz solar plena) durante 60 dias, ou até que as novas folhas produzidas atingissem a condição de “completamente expandida”; O tratamento controle, constituído de três mudas de cada espécie, mantidas permanentemente à sombra, debaixo de árvores adultas (com irradiância diária de aproximadamente $0,4 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$).

Densidade estomática (DE) - Para a determinação da densidade estomática (DE) foram retiradas, de cada espécie, 20 folhas, nas quais foram retiradas impressões da superfície da epiderme utilizando-se esmalte incolor (à base de acetato de celulose). Para retirar a película da superfície foliar foi utilizada uma fita adesiva transparente (durex). Essa fita adesiva contendo a impressão da folha foi colocada em lâmina para microscopia e feita a contagem utilizando microscópio ótico (Leica DM 500, Weltzlar, Alemanha) em objetiva 40X (magnificação de 400x). Em cada lâmina foram contados três campos de cada região da folha, da parte superior, mediana, e inferior (Ceulemans *et al.*, 1995), cada campo de visão tinha $0,45 \text{ mm}^2$. Também foi medido o comprimento das células-guarda (CG), para determinar a relação que existe entre DE e CG. Além disso, foi determinado o efeito da posição da folha (região da base, parte do centro e região do ápice) em DE e comprimento das CG.

Análise dos dados – Utilizou-se teste t para comparar o efeito dos tratamentos (sol e sombra) na densidade estomática. Análise de regressão foi feita para determinar a relação entre densidade estomática e comprimento das células-guarda. Análise de variância para a densidade estomática em função da região da folha. Nas análises estatísticas, utilizou-se o programa SAEG 9.0 da Universidade Federal de Viçosa, MG.

3. Resultados e Discussão

Densidade estomática - Verificou-se maior densidade estomática nas plantas expostas ao sol do que nas plantas mantidas à sombra ($p = 0,016$, estatisticamente significativo). A densidade estomática de *E. stipitata* variou de 1100 a 1600 estômatos por mm^{-2} , enquanto que a de *M. dubia* oscilou de 900 a 1400 estômatos mm^{-2} (Figura 1).

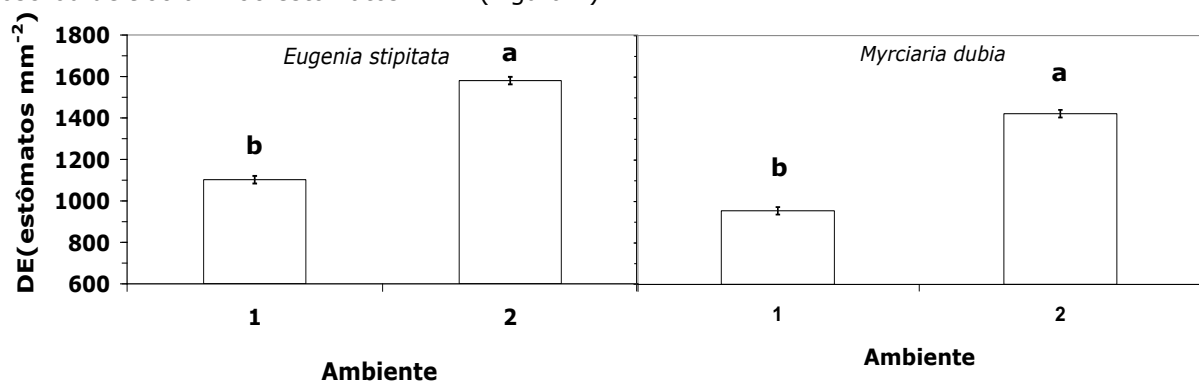


Figura 1- Densidade estomática em folhas de sombra (1) e sol (2) em *Eugenia stipitata* e *Myrciaria dubia*. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa ao 5 % de probabilidade. Cada barra representa a média (\pm erro padrão) 10 folhas.

Assim este resultado foi semelhante ao encontrado por Camargo (2009). Jesus *et al.* (2008) também encontraram a mesma relação ao verificar que a densidade dos estômatos varia conforme a altura da planta, porque nos extratos mais altos há uma maior exposição aos raios solares, o que resultou no aumento da densidade estomática. Posto que há uma maior densidade estomática com o aumento da intensidade luminosa, essa alteração parece servir para um melhor controle da perda de água. Isto porque estômatos menores abrem e fecham mais rápido do que aqueles de maiores tamanhos (Hetherington e Woodward, 2003). Quanto ao tipo, as duas espécies apresentaram estômatos em formato reniforme, confirmando a tendência das dicotiledôneas possuírem esse tipo estomático.

Efeito do ambiente no comprimento das CG. Observou-se um maior comprimento das células-guarda nas plantas mantidas na sombra, sendo de $16,4 \mu\text{m}$ em *E. stipitata* e $14,5 \mu\text{m}$ em *M. dubia*. Já

nas mantidas no sol os valores foram de 15,3 μm em *E. stipitata* e 14,4 μm em *M. dubia* (Figura 2), evidenciando-se, o efeito do ambiente nesse parâmetro.

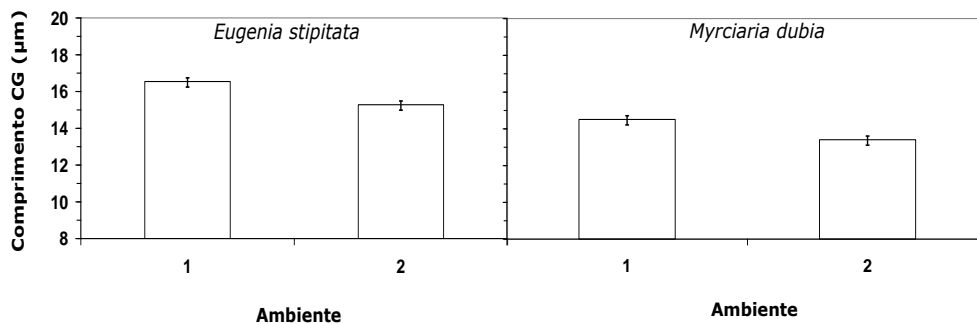


Figura 2 – Comprimento das células-guarda (CG) em folhas de sombra (1) e sol (2) em *Eugenia stipitata* e *Myrciaria dubia*. Cada barra representa a média (\pm erro padrão) de 10 folhas.

Densidade e tamanho dos estômatos - Observou-se uma relação inversa entre o comprimento da célula-guarda e a densidade estomática (DE) da folha, onde o aumento da densidade estomática leva a uma diminuição do comprimento da célula-guarda (Figura 3). Este resultado concorda com os resultados relatados por Hetherington e Woodward (2003), onde o aumento da densidade é acompanhado da diminuição do tamanho das células-guarda. O coeficiente de determinação (r^2) para essa relação foi altamente significativo ($p < 0,01$), sendo de 0,66 para *E. stipitata* e 0,63 para *M. dubia*.

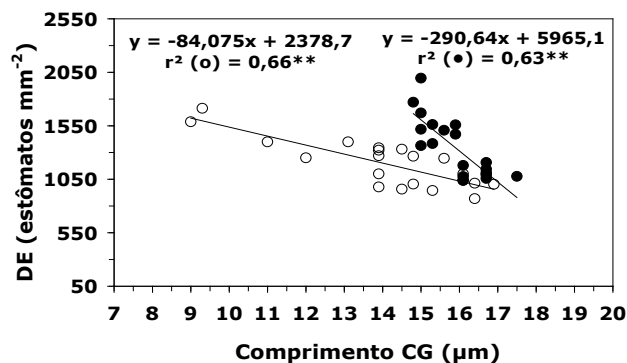


Figura 3 - Relação entre o comprimento da célula-guarda e a densidade estomática da folha em *E. stipitata* (o) e *M. dubia* (•). **: altamente significativo. Cada símbolo representa a média (\pm erro padrão) de 1 folha e 9 campos de visão.

A variação na densidade estomática (DE) e no comprimento das células-guarda, provavelmente, ocorre porque quando a planta está exposta ao sol ela tende a perder mais água, devido à forte demanda evaporativa da atmosfera o que torna necessário que o movimento estomático ocorra com maior rapidez (Hetherington e Woodward, 2003). Ou seja, em ambientes ensolarados os estômatos diminuem seu tamanho para minimizar a perda de água, pois quanto menor o estômato, mais rápido acontece o processo de abertura e fechamento do poro estomático. Isto ocorre para evitar que a diminuição no tamanho das CG não comprometa o processo fotossintético. Isto é, para que folhas com estômatos menores e mais numerosos tenham igual ou maior condutância estomática do que folhas com estômatos maiores.

Estômatos ao longo da folha - Ao se comparar DE ao longo do limbo foliar, ápice, meio e base, observou-se menor frequência de estômatos no ápice da folha (Figura 4). A análise de variância evidenciou que a diminuição em DE da parte central para o ápice é estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Provavelmente isso ocorre porque o ápice da folha recebe menos luz durante o processo de expansão foliar, pelo fato do ápice se manter numa posição menos horizontal do que a parte central da folha. Hipótese que precisa ser testada. Finalmente, ao analisarmos os tratamentos específicos por espécie pode-se notar que a diminuição em DE em *M. dubia* (parte central para o ápice) foi menos acentuada no tratamento de alta irradiância.

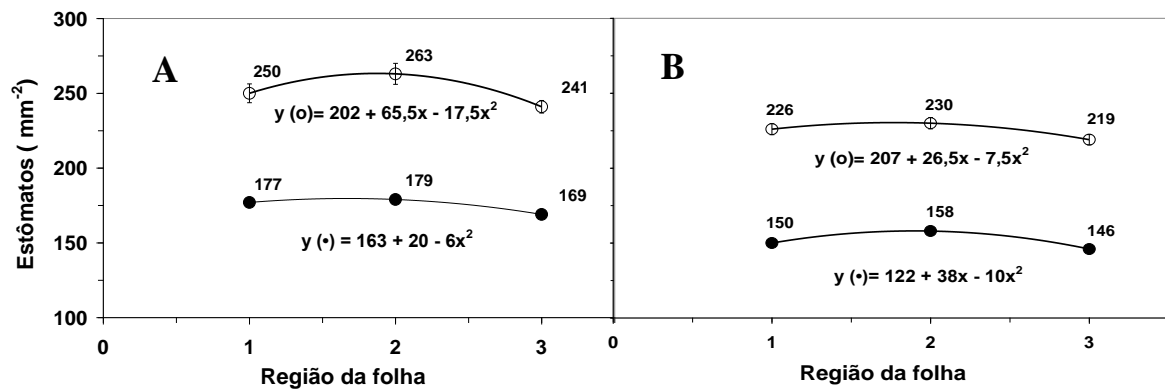


Figura 4 - Estômatos observados na região basal (1), central (2) e no ápice (3) em folhas de sol (o) e sombra (•) de *E. stipitata* (A) e *M. dubia* (B). Os números próximos aos símbolos indicam valores de DE. Cada símbolo representa a média (\pm erro padrão) de 10 folhas.

4. Conclusão

Concluiu-se que as folhas de *E. stipitata* e *M. dubia* são hipostomáticas (estômatos apenas na superfície inferior) com diminuição na DE da parte central para o ápice da folha. Além disso, observou-se maior densidade de estômatos nas plantas expostas ao sol do que naquelas mantidas à sombra. Finalmente, encontrou-se que à medida que a densidade de estômatos aumenta, diminui o comprimento da célula-guarda como um mecanismo de adaptação a alta irradiância.

5. Referências

- Boardman, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 28: 355-377.
- Bravo, L. 2007. Caracterização de vitamina C em frutos de camu-camu *Myrciaria dúbia* (K.B.K.) em diferentes estágios de maturação do banco ativo de germoplasma de Embrapa. Monografia de especialização em nutrição humana, Universidade de Brasília, Brasília, 104 pp.
- Camargo, M.A.B. 2009. Características estomáticas em espécies arbóreas da Amazônia Central. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 52 pp.
- Ceulemans, R., Zeanpraet, L., Jiang, X. N. 1995. Effects of CO₂ enrichment, leaf position and clone on stomatal index and epidermal cell density in poplar (*Populus*). *New Phytology* 131: 99-107.
- Esau, K., 1960. *Anatomy of seed plants*. John Wiley & Sons: New York, 376pp.
- Falcão, M. de A.; Chaves, W. B.; Ferreira, S. A. N.; Clement, C. R.; Barros, M. J. B.; Brito, J. M. C.; Santos, T. C. T. 1988. Aspectos fenológicos e ecológicos do araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh) na Amazônia central. *Acta Amazonica*, 18 (3-4): 27-38.
- Hetherington, A.M. & Woodward, F.I. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 424: 901-908.
- Jesus, S.V. ; Ferreira, E. G. ; Marengo, R.A. 2008. Distribuição e densidade estomática em função da altura da árvore e em *Carapa guianensis* e em *Swietenia macrophylla*. *XVII Jornada de iniciação científica-PIBIC CNPq/FAPEAM/INPA*.
- Marengo, R. A.; Lopes, N.F. 2009. *Fisiologia vegetal. Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. Viçosa: UFV, 3 ed., 486pp.
- Maués, M.M.; Couturier, G. 2002. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. *Revista brasileira de Botânica*, 25: 441-448.
- Salati, E.; Marques, J. 1984. Climatology of the Amazon region, p. 85-126. In: Sioli, H. (Eds.). *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River*. Dr. W. J. Junk Publishers, Boston, USA.