

2.03.04 – Botânica/Taxonomia Vegetal.

PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO DE ESTÔMATOS, CÉLULAS BULIFORMES E INCOLORES NAS EPIDERMES ADAXIAL E ABAXIAL EM FOLHAS DE ESPÉCIES DE *AXONOPUS* P. BEAUV. (POACEAE, PANICOIDEAE)

Ana Carolina F. França^{1,2}; Carolina F. Delfini³; Deise A. C. A. Carvalho¹; Cleber José da Silva¹; Juliana de Paula-Souza^{1,4}.

1. DECEB – Universidade Federal de São João del Rei/CSL

2. Bolsista PIBIC/FAPEMIG

3. Instituto de Botânica Darwinion (IBODA-CONICET)

4. Orientadora

Resumo

Dentro da família Poaceae, o gênero *Axonopus* P. Beauv. possui cerca de 90 espécies. Estudos filogenéticos sustentam o polifiletismo do gênero, mas até o momento, os caracteres de morfologia externa do grupo têm se mostrado insuficientes para delimitar suas diferentes linhagens. O padrão de distribuição de estômatos e células buliformes podem ser utilizados na caracterização de linhagens filogenéticas e estar ligados a adaptações a ambientes xéricos. O objetivo do trabalho foi realizar análises anatômicas foliares de espécies de *Axonopus* e contribuir para a taxonomia e conhecimento do gênero. Das espécies analisadas todas são anfiestomáticas, exceto *Axonopus brasiliensis*. Todas as espécies apresentaram células buliformes sobre a nervura mediana e entre os feixes vasculares ao longo do limbo foliar com exceção de *Axonopus siccus*. A distribuição e formato de corpos silicosos e o contorno das células epidérmicas comuns podem ser potencialmente úteis para a taxonomia do gênero.

Palavras-chave: Anatomia; Taxonomia; Gramíneas.

Apoio financeiro: FAPEMIG

Trabalho selecionado para a JNIC: UFSJ/CSL

Introdução

A família Poaceae é a mais importante do grupo das Angiospermas devido à sua amplitude ecológica e principalmente à sua importância econômica (Welker & Longhi-Wagner 2007). As gramíneas se destacam pelo seu potencial forrageiro constituindo grande parte das pastagens do mundo e por fundamentar a alimentação de diversos povos, como exemplo o arroz (*Oryza sativa* L.) e o trigo (*Triticum aestivum* L.). Dentro dessa família, o gênero *Axonopus* P. Beauv. apresenta cerca de 90 espécies (Zuloaga *et al.*, 2003) com distribuição Neotropical, das quais 54 estão presentes no Brasil, sendo 20 exclusivas (Delfini *et al.* 2018), distribuídas por todo país com maior concentração de espécies nas regiões Central, Sudeste e Sul. De acordo com Black (1963), o centro de diversidade do gênero é o Cerrado.

Ao descrever *Axonopus*, Beauvois (1812) o diferenciou dos gêneros próximos pela presença de inflorescências digitadas. Posteriormente, Chase (1906; 1911) caracterizou o mesmo pelas espiguetas solitárias em posição invertida, contribuindo para que adiante Black (1963) elaborasse a classificação infragenérica do gênero. Porém essas classificações foram baseadas em características morfológicas externas, as quais não foram corroboradas por análises moleculares (com exceção apenas da seção *Lappagopsis*) (Delfini 2016; Lopéz & Morrone 2012). Portanto fica evidente a necessidade de estudos filogenéticos mais robustos para a obtenção de classificação infragenérica coerente com a história evolutiva do gênero (Delfini, 2016).

Anton (1986) destacou que estruturas da epiderme foliar das espécies de *Axonopus* possibilitam o reconhecimento de padrões anatômico-morfológicos. Com isso, a distribuição de estômatos e a presença ou ausência de células buliformes são possibilidades de caracterizar clados na filogenia. Além disso, essas estruturas podem estar relacionadas a estratégias adaptativas a ambientes xéricos constantes ou com alternância entre períodos secos e chuvosos. O presente trabalho teve como objetivos avaliar os padrões de distribuição de estômatos e células buliformes do limbo foliar de espécies do gênero *Axonopus*, estudar suas prováveis funções adaptativas e explorar outras características anatômicas potencialmente úteis na caracterização das linhagens filogenéticas.

Metodologia

As atividades foram desenvolvidas no laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Ciências Exatas e Biológicas da UFSJ, no campus Sete Lagoas. As amostras analisadas foram obtidas a partir de materiais herborizados disponibilizados com o consentimento dos curadores das coleções. A escolha das espécies se baseou em Delfini (2016), buscando-se incluir representantes de todos os clados de *Axonopus* já reconhecidos.

Para a visualização das estruturas desejadas foram utilizados os dois protocolos, o de Hattersley (1984) com algumas adaptações para corte em micrótomo e análise de células buliformes, e o protocolo de diafanização de Kraus & Arduin (1997) para observação de estômatos. O primeiro consiste em desidratação das amostras em

série alcoólica crescente, inclusão em resina, emblocamento e seccionamento em micrótomo. Os cortes foram fixados em lâminas semipermanentes com o auxílio de chapa aquecedora e tingidos com o corante azul de toluidina. O segundo protocolo foi iniciado com as amostras submersas em álcool 70%, seguido de clarificação com hipoclorito de sódio 10%, desidratação em série alcoólica crescente e coloração com corante safranina. Foram montadas lâminas semipermanentes com uso de gelatina glicerizada.

Após finalizadas, as lâminas foram fotografadas em câmera (modelo AxioCam ERc5s, Zeiss) acoplada a microscópio óptico (Carl Zeiss, Alemanha). Foi formado um banco de imagens de todas as espécies e a partir dele todas foram analisadas em morfologia e distribuição das estruturas nas duas faces do limbo foliar. A densidade estomática foi obtida com auxílio do programa Image-Pro Plus versão 4.5, a partir de imagens capturadas pela lente objetiva de 10x.

Resultados e Discussão

Foram selecionadas para análise 38 espécies, sendo processadas 48 amostras. Entretanto a sensibilidade do material herborizados aos protocolos, mesmo com diversas adaptações, possibilitou a visualização com clareza das estruturas desejadas em um número reduzidos de amostras.

Em relação a distribuição de estômatos foi possível analisar a distribuição estomática em 12 amostras. Todas as espécies apresentaram estômatos distribuídos em faixas lineares nas zonas costais ou intercostais. Todas as espécies são anfiestomáticas com exceção *Axonopus brasiliensis*, que é hipoestomática. Enquanto algumas espécies como *Axonopus capillaris* apresentam densidade estomática semelhante em ambas as faces, outras como *Axonopus arcuatus* apresentam maior densidade de estômatos na face abaxial. Melo *et al.* (2007), analisando *Paspalum paniculatum* L., gênero morfológicamente próximo de *Axonopus*, observaram um aumento expressivo da densidade estomática na face abaxial e diminuição no tamanho dos estômatos quando a espécie foi submetida a estresse hídrico. Assim esses autores concluíram que a redução do tamanho dos estômatos, assim como a redução dos poros estomáticos estão relacionadas à eficiência do uso de água e estratégias para minimizar sua perda através da transpiração. As espécies de *Axonopus* que apresentaram tais características possivelmente fizeram uso de sua plasticidade morfológica e se adaptaram para suportar ambientes com períodos de seca.

Para as células buliformes, apenas 7 amostras foram passíveis de análise. De acordo com Esau (1965), a presença dessas estruturas, comum em gramíneas, promove o enrolamento ou dobramento da folha quando a planta é submetida a estresse hídrico, auxiliando na perda de água. Silva *et al.* (2001) observaram em experimento de deficiência hídrica que três espécies de gramíneas apresentaram enrolamento das folhas à medida que o potencial hídrico foliar reduzia, enquanto as amostras irrigadas não apresentaram mudanças em suas estruturas. Uma delas, *P. paniculatum*, que apresentou enrolamento precoce, sofreu mudanças significativas em seu potencial hídrico posteriormente às demais espécies. Isso pode estar relacionado com os resultados de Turner & Jones (1980), no sentido de que o enrolamento foliar pode ser uma forma de reduzir a exposição à luz e à transpiração foliar em períodos secos, proporcionando aos estômatos um microclima diferente do meio. De modo geral, todas as amostras apresentaram células buliformes de tamanhos variados sobre a nervura mediana e entre os feixes vasculares ao longo do limbo foliar, com exceção de *Axonopus siccus*, que não apresentou essas estruturas sobre a nervura mediana. Esses resultados, comparados aos estudos mencionados, corroboraram as propostas de Anton (1986), nas quais essas estruturas podem estar ligadas a adaptações a ambientes com alternância entre períodos secos e chuvosos.

Outros caracteres observados posteriormente com possível potencial para parâmetros taxonômicos foram o contorno das células epidérmicas comuns e o formato e distribuições de corpos silicosos. Estes últimos estão distribuídos de forma linear nas zonas costais da superfície foliar em formato de haltere, intercalados ou não com estruturas que aparentam ser corpos silicosos em formato cruciforme (Silva & Labouriau 1970). Em *Axonopus leptostachyus* (Swallen 8336), corpos halteriformes estão intercalados com possíveis corpos silicosos com o formato crenado dispostos horizontalmente. Uma sequência de estudos de corpos silicosos em gramíneas do Cerrado atribuíram a eles funções ligadas ao balanço hídrico, trocas térmicas, reflexão de radiação solar e, também, de grande importância para o uso taxonômico (Sendulsky & Labouriau, 1966; Campos & Labouriau, 1969; Silva & Labouriau 1970; Söndahl & Labouriau 1970). Complementando os estudos anteriores, Figueiredo & Handro (1971) encontraram um grande número de diferenças e ausência de características gerais que pudessem indicar um padrão entre as espécies, reafirmando o potencial de corpos silicosos como caráter auxiliar na taxonomia ao nível específico. McNaughton & Tarrant (1983) e Moore (1984) concluíram que os corpos silicosos poderiam proteger a planta do ataque de fungos e herbívoros e conferiam maior sustentação às folhas.

Por fim, quanto ao contorno das células epidérmicas comuns, as ondulações acentuadas apresentadas por *Axonopus arcuatus* e *Axonopus aureus* se destacam em relação ao contorno suave de espécies como *Axonopus carajasensis*. Essas características podem estar relacionadas a plantas que passaram por estresse durante a fase de desenvolvimento e divisão celular, ou que se desenvolveram em ambientes úmidos sombreados (Avery, 1933; Pyykko, 1966). Haberlandt (1928) supõe que as sinuosidades do contorno celular das células epidérmicas proporcionam resistência às mesmas durante períodos de estresse hídrico, evitando o rompimento. Logo, pode-se inferir que as espécies que apresentam ondulações acentuadas podem indicar adaptações a ambientes com alternância entre períodos secos e úmidos.

Conclusões

Estudos recentes realizados por Delfini (com. pes.) baseados em dados moleculares sugerem que a atual classificação filogenética para *Axonopus* já não se sustenta mais. Isso condiz com os dados obtidos neste

projeto onde não foram encontrados padrões entre as estruturas estudadas coniventes com os cladós obtidos nas filogenias de López & Morrone (2012) e Delfini (2016).

Para a distribuição de estômatos somente *A. brasiliensis* é hipoestomática e as demais são anfiestomáticas. As espécies apresentaram células buliformes na face adaxial sobre a nervura mediana e entre os feixes vasculares ao longo do limbo foliar, com exceção de *A. siccus*, que não apresentou células buliformes sobre a nervura mediana. A distribuição dessas estruturas sofre influência direta do ambiente. O contorno das células epidérmicas comuns e a distribuição e formato dos corpos silicosos apresentam potencial taxonômico. Logo, as características anatômicas encontradas nas espécies de *Axonopus* aqui abordadas são informativas sob o ponto de vista taxonômico e podem ser relacionadas com o ambiente que as espécies ocupam, tendo um grande potencial na delimitação das diversas linhagens desse gênero.

Referências bibliográficas

- ANTON, A. M. 1986. **Contribución al conocimiento de la anatomia foliar del género *Axonopus* (Poaceae).** *Darwiniana*, 27(1-4), 157-168.
- AVERY Jr, G. S. 1933. **Structure and development of the tobacco leaf.** *American Journal of Botany*, 20(9), 565-592.
- BEAUVOIS, A. M. F. J. P. 1812. ***Axonopus*.** *Essai d'une Nouvelle Agrostographie*. I-ixxiv, 1-182, pl. 1-25.
- BLACK, G. A. 1963. **Grasses of the genus *Axonopus* (a taxonomic treatment).** *Advancing Frontiers of Plant Sciences* 5, 1-186.
- CAMPOS, A. C. & LABOURIAU, L. G. 1969. **Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. II.** *Pesquisa agropecuária brasileira*, 4(1), 143-151.
- CHASE, A. 1906. **Notes on genera of Paniceae. I.** *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 19(1), 183-192.
- CHASE, A. 1911. **Notes on genera of Paniceae. IV.** *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 24(1), 103-160.
- DELFINI, C. 2016. **Contribuição à Sistemática de Paspaleae (Poaceae, Panicoideae): Filogenia de *Axonopus* P. Beauv. e Estudo Taxonômico das espécies ocorrentes no Brasil; Revisão das espécies de *Paspalum* L. do clado Pectinata.** [Tese de Doutorado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 425pp.
- DELFINI, C.; SANTOS, C. A. G.; ZULOAGA, F. O.; MACIEL, J. R.; VALLS, J. F. M.; SOUZA, V. C. ***Axonopus* in Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB13032>>. Acesso em: 05 Jun. 2018.
- ESAU, K. 1965. **Plant Anatomy.** New York, John Wiley & Sons. 767p.
- FIGUEIREDO, R. C. L. & HANDRO, W. 1971. **Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. V. III Simpósio sobre o Cerrado.** EDUSP- Editora da Universidade de São Paulo, pp. 215-230.
- HABERLANDT, G. 1928. **Physiological Plant Anatomy.** London, Mc Millan & Co. Ltd. 808p.
- HATTERSLEY, P. W. 1984. **Characterization of C₄ Type Leaf Anatomy in Grasses (Poaceae).** Mesophyll: Bundle Sheath Area Ratios. *Annals of Botany*, 53(2), 163-180.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Rio de Janeiro, Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 198p.
- LÓPEZ, A. & MORRONE, O. 2012. **Phylogenetic Studies in *Axonopus* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) and Related Genera: Morphology and Molecular (Nuclear and Plastid) Combined Analyses.** *Monographs in Systematic Botany*, 37(3), 671-676.
- McNAUGHTON, S. J. & TARRANTS, J. L. 1983. **Grass leaf silification: natural selection for an inducible defense against herbivores.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 80(3), 790-791.
- 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(2), 145-153.
- MOORE, D. 1984. **The distribution of opaline silica bodies in the leaf sheaths of two perennial ryegrass cultivars differing in their susceptibility to attack by dipterous stem-borers.** *Grass and Forage Science*, 39(2), 205-208.
- PYYKKÖ, M. 1966. **The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants.** *Annales Botanici Fennici*, 3(4), 453-622.
- SENDULSKY, T. & LABOURIAU, L. G. 1966. **Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. I.** *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, 38 (suplemento), 159-170.
- SILVA, S. T. & LABOURIAU, L. G. 1970. **Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. III.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 5(1), 167-182.

SILVA, S.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; MAGALHAES, P. C. 2001. **Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos, submetidas à deficiência hídrica.** *Ciência e Agrotecnologia*, 25(1),124-133.

SÖNDAHL, M. R. & LABOURIAU, L. G. 1970. **Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. IV.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 5(1), 183-207.

TURNER, N. C.; JONES, M. M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: TURNER, N. C.; KRAMER, P. J. **Adaptation of plant to water and high temperature stress.** New York, J. Wiley, p. 87-104.

WELKER, C. A. D. & LONGHI-WAGNER, H. M. 2007. **A família Poaceae no Morro Santana, Rio Grande do Sul, Brasil.** *Revista Brasileira de Biociências*, 5(4), 53-92.

ZULOAGA, F.O.; MORRONE, O.; DAVIDSE, G.; FILGUEIRAS, T.S.; PETERSON, P.M.; SORENG, R.J. & JUDZIEWICZ, E.J. 2003. *Axonopus* P. Beauv. In: ZULOAGA, F. O.; MORRONE, O.; DAVIDSE, G.; FIGUEIRAS, T. S.; PETERSON, P. M.; SORENG, R. J.; JUDZIEWICZ, E.J. (eds.), **Catalogue of New World grasses (Poaceae): III. Subfamilies Panicoideae, Aristidoideae, Arundinoideae, and Danthonioideae.** *Contributions from the United States National Herbarium*, 46, 662p.