

EFEITOS DO 2,4-D SOBRE A ANATOMIA DO EPICÓTILO, COTILÉDONES E FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* PIPER ET TRACY

EDMILSON BIANCHINI¹
GRACI MIRIAN CORSO²

BIANCHINI, E.; CORSO, G.M. Efeitos do 2,4-D sobre anatomia do epicótilo, cotilédones e folhas primárias de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy. **Semina: Ci. Biol./Saúde**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 13 - 21, jun. 1992.

RESUMO

No presente trabalho foram estudados os efeitos do 2,4-D sobre a anatomia e a morfologia do epicótilo, cotilédones e limbo das folhas primárias de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, em condições de laboratório. Seis dias após o início do experimento, as sementes germinadas foram transferidas para recipientes, contendo água destilada, 0,01; 0,10; 1,00; 10,0 ou 100,0 mg/l de solução herbicida. As plântulas foram coletadas para análise aos 15 dias após a semeadura. O 2,4-D inibe o desenvolvimento do epicótilo, a partir da dosagem 0,1 mg/l, havendo alterações anatômicas no ápice caulinar, nas dosagens 10 e 100 mg/l. Na região mediana do epicótilo, somente a dosagem 10 mg/l, induz modificações. O tratamento 100 mg/l inibe o desenvolvimento. O herbicida não altera o tamanho e a estrutura dos cotilédones, mas inibe o consumo do material de reserva, nas maiores dosagens. A partir do tratamento 0,1 mg/l, constata-se redução progressiva do desenvolvimento das folhas primárias, havendo compactação do mesofilo.

PALAVRAS-CHAVE: 2,4-D; *Stizolobium aterrimum*; Anatomia vegetal

1 - INTRODUÇÃO

Os efeitos do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) sobre a anatomia de muitas plantas têm sido descritos por vários autores. Entre os efeitos cita-se a inibição do crescimento da parte aérea de *Glycine max* (L.) Merr. (KEY et al. 1966), *Pinus resinosa* Ait (WU et al. 1971), *Psoralea corylifolia* L. (BAKALE & HADKE, 1980), *Stizolobium aterrimum* (STEVAUX, 1982) e *Sorghum bicolor* (L.) Moench (RODELLA, 1987). Inibição da expansão foliar, após o tratamento com o herbicida, foi observada em *Phaseolus vulgaris* L. (WATSON, 1948) e *Cucumis sativus* L. (WEST et al. 1960). SUNDARU et al. (1983) verificaram redução do número de folhas, em plantas de *Oryza sativa* L., após o tratamento.

O desenvolvimento dos cotilédones de *Pinus resinosa* foi grandemente alterado pelo 2,4-D. A expansão foi inibida e ocorreu proliferação das células parenquimáticas, vizinhas aos tecidos vasculares. Seus elementos vasculares eram menos desenvolvidos que os da testemunha e o número de cloroplastos era menor (WU et al. 1971).

STRUCKMEYER (1951) relatou que muitas plantas respondiam ao tratamento de 2,4-D, através da proliferação celular e formação de raízes laterais, sendo que os te-

cidos responsáveis eram o câmbio, parênquima floemático, células do raio e periciclo. Também podiam participar da proliferação, a endoderme (SWANSON, 1946; BAKALE & HADKE, 1980) e o parênquima cortical (MURRAY & WHITING, 1947). RODELLA (1987) constatou a proliferação do parênquima incolor em folhas de *Sorghum bicolor*. FELBER (1948) observou a formação de tumores em ambas as superfícies de folhas trifolioladas de *Phaseolus vulgaris*, sendo que esta proliferação deu-se a partir do parênquima lacunoso, nas vizinhanças dos feixes vasculares. A epiderme acompanhou este crescimento.

Tecido de proliferação ocorre em caules e raízes e resulta no intumescimento do órgão, compressão e ruptura dos tecidos externos, que não tomam parte na proliferação. Em folhas, este tecido proliferante é denominado de tecido de substituição, o qual apresenta células semelhantes às dos parênquima, somente sendo mais túrgidas, com paredes mais espessas e com poucos ou nenhum espaço intercelular. Os cloroplastos estão ausentes ou em pequeno número (WATSON, 1948).

Assim sendo, este trabalho visa determinar os efeitos do 2,4-D, em diferentes dosagens, sobre a anatomia do epicótilo, cotilédones e folhas primárias de plântulas de *S. aterrimum*, em condições laboratoriais.

1 - Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB/Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051-970, Londrina - Paraná - Brasil

2 - Departamento de Botânica - IB/UNESP, Rio Claro

2 – MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *S. aterrimum*, após serem esterilizadas, eram germinadas em bandejas plásticas em uma câmara de germinação, com incidência luminosa de 1800 lux, fotoperíodo de 12 horas e temperatura com a média das mínimas de 22,6°C e com a média das máximas de 29°C. Após a germinação, as sementes foram transferidas para recipientes contendo água destilada, 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 ou 100,0 mg/l do herbicida e mantidas na mesma câmara de germinação.

Quinze dias após o início do experimento, foram fixadas as partes aéreas de 20 plântulas, para cada dosagem, em álcool 70%, totalizando cinco repetições. Utilizando-se de régua e paquímetro, mediu-se o comprimento e o diâmetro da região mediana do epicótilo, comprimento e largura máximos do limbo das folhas primárias e comprimento e largura máximos dos cotilédones. Quando não houve desenvolvimento do epicótilo ou das folhas primárias, atribuiu-se o valor zero em termos de desenvolvimento.

As plântulas das cinco repetições restantes foram utilizadas para o estudo anatômico. O material utilizado neste estudo constava de ápice e região mediana do epicótilo, região mediana dos cotilédones e região mediana do limbo das folhas primárias (nervura principal, região da lâmina e bordo). Estes materiais foram fixados em Bouin-Hollande, desidratados e diafanizados na série etanol-xilol e incluídos em parafina (JOHANSEN, 1940). Os blocos foram seccionados transversal e longitudinalmente, em micrótomo rotativo Reichert. Estas seções, com aproximadamente 12 micrômetros (μm), foram corados com azul de astra-fucsina básica (ROESER, 1972), montadas em bálsamo do Canadá e fotografadas em fotomicroscópio Docuval Zeiss-Jena.

As lâminas referentes à região mediana do epicótilo, nervura principal e região mediana da lâmina das folhas primárias, foram analisadas e alguns parâmetros medidos, utilizando-se de ocular micrométrica ou de retículo. Estes parâmetros foram: a) epicótilo, em seção longitudinal – comprimento e altura das células epidérmicas e comprimento das células dos parênquimas cortical e medular; b) epicótilo, em seção transversal – área total, número de camadas celulares e espessura do córtex, espessuras de fibras, do floema e das camadas de fibras e vasos do xilema; c) folhas primárias, em seção transversal – área total da nervura principal, área do xilema e do floema, espessura do limbo e dos parênquimas paliádico e lacunoso, altura das células epidérmicas adaxiais e abaxiais.

Para análise da epiderme foliar, utilizou-se o método de impressões em cola Super Bonder sobre lâminas (Comunicação pessoal de E. Mark Engleman). Foram utilizadas três folhas primárias por tratamento. Essas impressões foram feitas na região mediana do limbo foliar. As lâminas obtidas foram analisadas, com auxílio de

ocular de retículo e foram feitas contagens do número de estômatos, de células-mãe de estômatos e de células epidérmicas, por milímetro quadrado (mm^2). Foram contados 30 campos para cada face, sendo 10 em cada folha primária. Com auxílio de ocular micrométrica, foram medidos, em micrômetros (μm), o comprimento e a largura de 300 estômatos e de 300 células epidérmicas, em cada face, sendo 100 em cada folha primária.

Testes histoquímicos foram realizados para determinar a presença de proteínas, óleos, taninos e alcalóides, nos cotilédones e epicótilo. Os testes utilizados foram, respectivamente: reação de Biureto (MULLER, 1968), sudam IV, solução aquosa de cloreto de ferro III e solução de iodo em iodeto de potássio (JOHANSEN, 1940). Esta última solução também foi utilizada para a determinação de grãos de amido.

Os dados foram submetidos a uma análise de variância, com o intuito de estimar se o herbicida apresentava um efeito significativo sobre os parâmetros analisados. Para verificar possíveis diferenças entre as médias de cada tratamento, utilizou-se o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Análise de variância e teste de Tukey também foram aplicados sobre o número de estômatos, células-mãe de estômatos e células epidérmicas. Quando necessário, os dados foram transformados para $\sqrt{x + 0,5}$ para melhorar a aproximação da distribuição normal. Para verificar possíveis efeitos das dosagens dos herbicidas sobre o tamanho dos estômatos e células epidérmicas utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson (PETERS & SUMMERS, 1973; GOMES, 1978).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

O 2,4-D, na dosagem 0,01 mg/l, estimula o desenvolvimento do epicótilo, quando comparado às respectivas plântulas controle. A partir da dosagem 0,1 mg/l, há redução, sendo significativa, ao nível de 5%, para as dosagens 1,0, 10 e 100 mg/l. Nas dosagens 10 e 100 mg/l, o epicótilo permanece entre os cotilédones. Nestes tratamentos, há redução significativa, ao nível de 5%, do diâmetro da região mediana do epicótilo, quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 1). Salienta-se, entretanto, que a diferença significativa observada para o diâmetro do epicótilo, nas dosagens 10 e 100 mg/l, deve-se ao não desenvolvimento do epicótilo, em muitas plântulas tratadas com o herbicida.

O 2,4-D, na dosagem 0,01 mg/l estimula o desenvolvimento das folhas primárias, quando comparado à testemunha, embora não de forma significativa. A partir da dosagem 0,1 mg/l, o herbicida provoca redução do limbo das folhas primárias, não havendo desenvolvimento das mesmas, nas dosagens 10 e 100 mg/l (Tabela 1).

Este herbicida não afeta o tamanho dos cotilédones (Tabela 1).

TABELA 1 - EFEITOS DO 2,4-D, EM DIFERENTES DOSAGENS, SOBRE PLÂNTULAS DE *Sisymbrium oleraceum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO. OS DADOS SÃO VALORES MÉDIOS, EXPRESSOS EM MILÍMETROS (MM).

DOSAGEM (mg/l)	CE	DRME	CMFP	LMFP	CMC	LMC
0,00	257,23 ^a	1,74 ^a	70,50 ^a	46,68 ^a	20,29 ^a	11,50 ^a
0,01	275,40 ^a	1,42 ^{ab}	80,28 ^a	55,14 ^a	20,57 ^a	11,85 ^a
0,10	236,65 ^a	1,87 ^a	60,33 ^a	40,63 ^a	19,82 ^a	11,58 ^a
1,00	87,80 ^b	1,63 ^a	19,00 ^b	11,49 ^b	20,13 ^a	11,72 ^a
10,0	5,70 ^c	0,98 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	20,54 ^a	11,89 ^a
100	0,50 ^c	0,24 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b	19,95 ^a	11,51 ^a

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% CE-comprimento do epicótilo; DRME-diâmetro da região mediana do epicótilo; CMFP-comprimento do limbo das folhas primárias; LMFP-largura máxima do limbo das folhas primárias; CMC-comprimento das folhas cotiledonares; LMC-largura máxima das folhas cotiledonares.

Segundo WASICKI & HOENE (1949) apud KOGAN (1971), dosagens abaixo de 1,0 ppm de 2,4-D, atuavam como estimuladoras de crescimento enquanto que, dosagens acima destas, apresentavam atividades herbicidas. Conclui-se, portanto, que a dosagem 0,01 mg/l, nas condições deste experimento, atua como estimuladora de crescimento, enquanto que, as demais dosagens, apresentam efeitos herbicidas.

Inibição de crescimento da parte aérea foi observada em *Phaseolus vulgaris* (SWANSON, 1946) e *Euphorbia heterophylla* L. (DEUBER et al., 1977), dentre outras. APELBAUM & BURG (1972a) observaram redução do desenvolvimento da plúmula de *Pisum sativum* L., após o tratamento com 2,4-D e etileno.

LETHAM et al. (1982) citaram que as auxinas eram inativas na expansão dos cotilédones imaturos e excisados de *Raphanus sativus* L.. Entretanto, AYLING (1977) observou redução na expansão dos cotilédones de *Pinus radiata* D. Don, após o tratamento com tordon 50D (picloram + 2,4-D). WU et al. (1971) constataram que os efeitos do 2,4-D e picloram sobre o crescimento e o desenvolvimento de plântulas de *Pinus resinosa*, eram similares. Estes autores também observaram inibição da expansão, proliferação de células parenquimáticas vizinhas aos tecidos vasculares e hipertrofia de células mesoflicas em cotilédones desta, tratados com 2,4-D.

Os tratamentos 0,01, 0,1 e 1,0 mg/l não provocam alterações estruturais no ápice caulinar, em relação à testemunha (Fig. 1A). Os tratamentos 10 e 100 mg/l estimulam a divisão celular. Observam-se divisões anticlinais nas células da protoderme, evidenciando-se hiperplasia

(Fig. 1B). Não se constata a formação de gemas nas axilas dos primórdios foliares. Presume-se que a gema apical caulinar, tratada com estas dosagens, depois de uma série de divisões, cesse este processo. As células meristemáticas resultantes destas divisões são anormais e desorganizadas de maneira que não há o desenvolvimento do epicótilo e nem formação de gemas laterais.

SWANSON (1946) citou que, provavelmente, o 2,4-D acelerava a divisão de células que já estavam sofrendo mitose, mas inibia naquelas que ainda não tinham iniciado o processo. AUDUS (1976) afirmou que o 2,4-D geralmente inibia a divisão e o alongamento celular nos meristemas primários de plantas intactas e creditava à produção aumentada de etileno, estimulada por auxinas, a responsabilidade pela inibição. Etileno e 2,4-D inibiram a divisão celular e a síntese de DNA no ápice caulinar, gemas axilares e região subplumular de plantas estioladas de *Pisum sativum* (APELBAUM & BURG, 1972a,b). KEY et al. (1966) também constataram que a divisão celular era inibida no início do tratamento com 2,4-D, no epicótilo de plântulas de *Glycine max*, sendo que as células voltavam a se dividir posteriormente. CARDENAS et al. (1968) constataram que não ocorria crescimento normal no ápice caulinar de *Xanthium* sp L., após o tratamento com o herbicida.

AYLING (1977) trabalhando com plântulas de *Pinus radiata*, tratadas com o herbicida tordon 50D, observou alteração do plano normal de divisão, redução do alongamento celular e aumento na vacuolização das células do epicótilo, abaixo do meristema apical.

Com referência à região mediana do epicótilo, o herbicida, na dosagem 0,01 mg/l, induz hipertrofia e hiperplasia, estatisticamente não significativas, do córtex e aumento na área total do epicótilo, em relação à testemunha (Tabela 2). A hiperplasia, talvez, leve ao encurtamento observado nas células corticais (Tabela 2). Nota-se ainda hiperplasia da medula, com ligeira redução do comprimento de suas células (Tabela 2).

As dosagens 0,1 e 1,0 mg/l não provocam grandes mudanças na estrutura do epicótilo, quando comparado à dosagem 0,01 mg/l (Tabela 2).

No tratamento 10 mg/l nota-se significativa hipertrofia e hiperplasia do córtex, o que acarreta aumento significativo da área total do epicótilo (Tabela 2). Verifica-se encurtamento das células epidérmicas e corticais e aumento em altura das células epidérmicas (Tabela 2). Observa-se aumento significativo da espessura do floema e sensível redução do xilema. Há um aumento considerável do número de idioblastos tanferos no floema e na medula (Fig. 1D, Tabela 2), quando comparado à testemunha (Fig. 1C, Tabela 2). Observa-se ainda hiperplasia da medula e encurtamento significativo de suas células. Salienta-se, portanto, que a maioria das plântulas, nesta dosagem, não desenvolvem epicótilo.

A dosagem 100 mg/l inibe o desenvolvimento do epicótilo.

TABELA 2 - VALORES MÉDIOS DE ALGUNS PARÂMETROS ANATÔMICOS DO EPICÓTILO DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM 2,4-D.

PARÂMETROS/DOSAGENS (mg/l)	0,00	0,01	0,10	1,00	10,0
área total (mm ²).	1,786 ^a	2,570 ^b	1,730 ^a	1,783 ^a	2,434 ^b
altura das células epidérmicas (mm).	0,010 ^a	0,012 ^a	0,013 ^a	0,013 ^a	0,021 ^b
comprimento células epidérmicas (mm).	0,077 ^a	0,060 ^{ab}	0,060 ^{ab}	0,070 ^a	0,039 ^b
n camadas celulares do córtex.	4,670 ^a	7,670 ^b	5,330 ^a	7,330 ^b	1,233 ^c
espessura do córtex (mm).	0,192 ^a	0,395 ^a	0,208 ^a	0,411 ^a	1,232 ^b
compr. células do córtex (mm).	0,178 ^a	0,112 ^b	0,104 ^b	0,164 ^a	0,066 ^b
espessura camadas de fibras (mm).	0,030 ^a	0,035 ^a	0,038 ^a	0,031 ^a	0,023 ^a
espessura do floema (mm).	0,081 ^a	0,095 ^{ab}	0,106 ^{ab}	0,087 ^a	0,117 ^b
espessura xilema-vasos (mm).	0,107 ^{ab}	0,108 ^{ab}	0,127 ^a	0,093 ^b	0,061 ^c
espessura do xilema-fibras (mm).	0,051 ^a	0,048 ^a	0,052 ^a	0,039 ^a	—
compr. células medulares (mm).	0,154 ^a	0,144 ^a	0,134 ^a	0,136 ^a	0,064 ^b

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5%. A dosagem 100 mg/l inibe o desenvolvimento do epicótilo.

Intumescimento do caule foi observado em *Phaseolus vulgaris* (SWANSON, 1946), *Cucumis sativus* (WEST et al. 1960), *Glycine max* (KEY et al. 1966) *Pinus resinosa* (WU et al. 1971), *Psoralea corylifolia* (BAKALE & HADKE, 1980), *Stizolobium aterrimum* (STEVAUX, 1982) e *Sorghum bicolor* (RODELLA, 1987).

WU et al. (1971) citaram que o intumescimento do caule era devido à hiperplasia e hipertrofia das células parenquimáticas, vizinhas dos tecidos vasculares. APELBAUM et al. (1972) constataram hipertrofia ou deformação nas células epidérmicas, nos parênquimas cortical e medular e nas fibras floemáticas e xilemáticas. CORSO et al. (1980) também constataram hipertrofia e irregularidades na forma de células epidérmicas e corticais na região do anel meristemático de colmos de *Saccharum officinarum* L. DEUBER e al. (1977) relataram o efeito formativo do 2,4-D na medula de *Euphorbia heterophylla*. KEY et al. (1966) não se referiram a intumescimento do epicótilo de *Glycine max*, mas citaram crescimento radial do hipocótilo, como consequência da hipertrofia das células corticais e medulares. SWANSON (1946), entretanto, citou que a medula de *Phaseolus vulgaris*, não foi afetada pelo tratamento de 2,4-D.

AYLING (1977) e SALGARE & INDAR (1985) observaram rompimento das células do córtex, com formação

de lacunas, em *Pinus radiata* e *Solanum xanthocarpum* Schrad & Wendl., respectivamente, após o tratamento com 2,4-D, o que não foi verificado no presente experimento.

Auxinas, em concentrações elevadas, inibem o alongamento celular (EVANS & MULKEY, 1982). APELBAUM et al. (1972) e OSBORNE (1982) citam que auxinas ou etileno reduzem o crescimento longitudinal e levam a uma expansão celular lateral. Desta forma, o 2,4-D, reduz o comprimento das células epidérmicas, corticais e medulares e estimula o crescimento radial das células epidérmicas de *S. aterrimum*.

APELBAUM et al. (1972) relataram que o 2,4-D e etileno inibiram a lignificação de fibras e elementos do metaxilema de *Pisum sativum*, após o tratamento. CORSO et al. (1980) também constataram a ausência de metaxilema na região do anel meristemático de colmos de *Saccharum officinarum*. Assim pode-se explicar a ausência de fibras e a não formação de novos elementos do xilema nas maiores dosagens, nas condições deste experimento. Não há na literatura consultada referência a idioblastos taníferos, afetados pelo 2,4-D.

Parece razoável, portanto, concluir que a inibição do crescimento do epicótilo de *S. aterrimum*, após o tratamento com 2,4-D, seja devido à alteração do meristema

apical caulinar, havendo a interrupção das divisões e dos alongamentos celulares. Estas alterações podem ser devidas a modificações nos níveis hormonais provocadas pela adição de uma auxina sintética exógena, o 2,4-D.

A redução da produção e expansão das folhas de *S. aterrimum*, provavelmente esteja relacionada com a inibição das divisões e do alongamento celular, após o tratamento. WATSON (1948) citou que a redução das folhas era causado pelo desenvolvimento anormal das células derivadas dos meristemas.

Os valores médios de número de estômatos, células-mãe de estômatos e células epidérmicas, por mm², nas faces adaxiais e abaxiais de folhas primárias, tratadas com 2,4-D estão sumarizados na Tabela 3. Os valores médios de tamanho de estômatos e de células epidérmicas, em micrômetros, estão apresentados na Tabela 4.

Em visão frontal das duas faces epidérmicas, não foram observadas diferenças marcantes entre os diversos tratamentos onde houve o desenvolvimento das folhas primárias. O herbicida não altera significativamente o número de estômatos, bem como os seus tamanhos. Entretanto, na dosagem 0,01 mg/l, ele reduz significativamente, ao nível de 5%, o número de células epidérmicas, nas duas faces, quando comparado à testemunha (Tabela 3). Estas células são hipertrofiadas, quando comparadas à testemunha (Tabela 4).

TABELA 3 - NÚMERO MÉDIO DE ESTÔMATOS (1), CÉLULAS-MÃE DE ESTÔMATOS (2) E DE CÉLULAS EPIDÉRMICAS (3), POR MILÍMETRO QUADRADO (MM²), NA REGIÃO MEDIANA DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Sizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM 2,4-D

DOSAGEM (mg/l)	FACE ADAXIAL			FACE ABAXIAL		
	1	2	3	1	2	3
0,00	113,3 ^a	33,3 ^a	1319,7 ^a	326,7 ^a	46,7 ^a	1610,7 ^a
0,01	93,3 ^a	6,7 ^a	1056,0 ^b	350,0 ^a	23,3 ^a	1464,7 ^b
0,10	130,0 ^a	23,3 ^a	1263,0 ^a	356,7 ^a	43,3 ^a	1518,0 ^{ab}

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5%. O tratamento 1,0 mg/l não foi analisado por apresentar folhas reduzidas e os tratamentos 10 e 100 mg/l, por inibirem o desenvolvimento das folhas.

TABELA 4 - TAMANHO MÉDIO DOS ESTÔMATOS (1) E DE CÉLULAS EPIDÉRMICAS (2), EM MICRÔMETRO (µm), NA REGIÃO MEDIANA DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Sizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO TRATADAS COM 2,4-D.

DOSAGEM (mg/l)	FACE ADAXIAL		FACE ABAXIAL	
	1	2	1	2
0,00	15,2 × 8,0	42,7 × 26,4	16,2 × 8,4	40,1 × 23,9
0,01	16,0 × 8,3	45,4 × 28,9	17,6 × 9,3	44,7 × 25,5
0,10	16,3 × 8,7	44,8 × 26,6	16,9 × 9,0	43,2 × 24,0

O tratamento 1,0 mg/l não foi analisado por apresentar folhas reduzidas e os tratamentos 10 e 100 mg/l, por inibirem o desenvolvimento das folhas.

O coeficiente de correlação de Pearson mostra que não há correlação entre os tratamentos e o tamanho dos estômatos e das células epidérmicas, tanto para a face adaxial, quanto para a abaxial.

Por apresentar folhas primárias reduzidas ou não desenvolvidas, não se analisou o material das dosagens 1,00, 10,0 e 100,0 mg/l do herbicida.

RODELLA (1987) verificou que o herbicida não afetou o número de estômatos em *Sorghum bicolor*. Entretanto WU et al. (1971) constataram redução no número de estômatos, nos cotilédones de *Pinus resinosa*, tratadas com 2,4-D.

A análise estatística revelou que o 2,4-D não altera significativamente a estrutura da nervura principal de folhas primárias (Tabela 5). Nota-se, entretanto, que as dosagens 0,01 e 0,1 mg/l estimulam o aumento da área da nervura principal e da área do xilema e do floema. A dosagem 1,0 mg/l reduz estas áreas, em comparação à testemunha.

RODELLA (1987) não constatou alteração da quilha de folhas de *Sorghum bicolor*, enquanto que SALGARE & INDAR (1985) observaram rompimento e alteração de forma da nervura principal de folhas de *Solanum xanthocarpum*, tratadas com 2,4-D. EAMES (1949) constatou, na região basal de folhas de *Cyperus rotundus* L., tratadas com 2,4-D, o desenvolvimento de vasos do metaxilema estreitos, frequentemente bloqueados com gomas e o floema reduzido e pobremente diferenciado.

Com referência ao limbo das folhas primárias, o 2,4-D, na dosagem 0,01 mg/l, não altera a estrutura da epiderme, quando comparado à testemunha (Fig. 1E). Há um aumento de espaços intercelulares no mesofilo, o que provoca, em alguns pontos, o descolamento da face epidérmica abaxial. Este aumento nos espaços intercelulares leva a um aumento de espessura do parênquima lacunoso, embora estatisticamente, este valor não é significativo, quando comparado à testemunha. Isto acarreta maior espessura do limbo, não sendo as diferenças significativas (Tabela 5). Não há formação de cristais nas extensões de bainha, como observado na testemunha.

Na dosagem 0,1 mg/l, as células epidérmicas apresentam conteúdo de origem tanfêra (flobafeno). Há uma compactação do mesofilo, devido provavelmente a uma aparente hipertrofia do parênquima lacunoso e consequente redução de espaços intercelulares. Embora não seja estatisticamente significativo, observa-se aumento de espessura do parênquima lacunoso (Tabela 5).

TABELA 5 - VALORES MÉDIOS DE ALGUNS PARÂMETROS ANATÔMICOS DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM 2,4-D.

PARÂMETROS/DOSAGENS (mg/l)	0,00	0,01	0,10	1,00
área total nervura principal (mm ²).	0,372 ^a	0,494 ^a	0,550 ^a	0,337 ^a
área total do xilema (mm ²).	0,030 ^{ab}	0,030 ^{ab}	0,042 ^a	0,017 ^b
área total do floema (mm ²).	0,048 ^a	0,052 ^a	0,056 ^a	0,036 ^a
altura cél. epidérmicas adaxiais (mm).	0,012 ^a	0,011 ^a	0,011 ^a	0,011 ^a
altura cél. epidérmicas abaxiais (mm).	0,007 ^a	0,011 ^a	0,009 ^a	0,010 ^a
espessura limbo (mm).	0,086 ^a	0,109 ^a	0,098 ^a	0,099 ^a
espessura parênquima paliçádico (mm).	0,028 ^a	0,028 ^a	0,026 ^a	0,025 ^a
espessura parênquima lacunoso (mm).	0,039 ^a	0,059 ^a	0,051 ^a	0,053 ^a

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5%. Os tratamentos 10 e 100 mg/l inibiram o desenvolvimento das folhas primárias.

Em 1,0 mg/l, as células epidérmicas apresentam-se mais uniformes e também com conteúdo tanífero (Fig. 1F). O mesofilo mostra-se compactado e não há formação de cristais nas extensões de bainha, quando comparado à testemunha.

O herbicida altera a estrutura das células do parênquima paliçádico, à medida que se aumentam as dosagens, passando de cônicas para cilíndricas (Fig. 1F), quando comparado à testemunha (Fig. 1E).

EAMES (1949) encontrou células epidérmicas menores nas regiões mais afetadas de folhas de *Cyperus rotundus*, tratadas com 3000 ppm de 2,4-D, embora nas regiões menos afetadas, as células fossem hipertrofiadas. BAKALE & HADKE (1980) também constataram compactação de células, em cotilédones de *Psoralea coryfolia*. SALGARE & INDAR (1985) relataram rompimento das células mesofílicas de *Solanum xanthocarpum* e FELBER (1948) a proliferação do parênquima lacunoso junto aos feixes vasculares de folhas trifolioladas de *Phaseolus vulgaris*, tratadas com 2,4-D. Não há menção, na literatura consultada, em relação à ação do herbicida sobre cristais e taninos.

Descolamento da epiderme também foi verificado por DEUBER et al. (1977), na região do colo de plantas de *Euphorbia heterophylla*. WATSON (1948) e EAMES

(1949) relataram a presença de tecido de substituição no limbo das folhas de *Phaseolus vulgaris* e *Cyperus rotundus*, respectivamente. As mudanças ocorridas no limbo das folhas primárias de *S. aterrimum*, lembram o tecido de substituição descrito pelos autores supracitados. O menor desenvolvimento do tecido de substituição em *S. aterrimum*, provavelmente se deve à aplicação do herbicida na raiz, enquanto aqueles autores o pulverizavam diretamente nas folhas.

Não se observa modificações estruturais no bordo das folhas primárias, nos diversos tratamentos, quando comparado à testemunha.

Com relação aos cotilédones, as dosagens 0,01 e 0,1 mg/l estimulam o consumo do material de reserva (Fig. 2B), quando comparado à testemunha (Fig. 2A). As células do parênquima de reserva, nestes tratamentos, aparecem hipertrofiadas e alongadas radialmente. No tratamento 1,0 mg/l, o consumo é bastante inibido, tanto de proteínas, quanto de grãos de amido, sendo que o consumo é maior próximo a epiderme (Fig. 2C).

Nas dosagens 10 e 100 mg/l, aparentemente, o consumo é inibido para proteínas e grãos de amido. As células aparecem hipertrofiadas e alongadas radialmente (Fig. 2D,F), quando comparadas à testemunha (Fig. 2A,E).

A partir do tratamento, 1,0 mg/l, observa-se aglomeração de proteínas, de forma que na dosagem 100 mg/l, constata-se a presença de proteínas em forma de "gotículas" (Fig. 2D,F).

BAKALE & HADKE (1980) observaram alterações anatômicas nos cotilédones de *Psoralea corylifolia*. Estes autores aplicavam o herbicida diretamente nas sementes enquanto que, neste experimento, as sementes eram embebidas e posteriormente tratadas. Talvez isto possa interferir nos resultados, sendo necessário estudos a este respeito.

A redução de consumo do material de reserva em *S. aterrimum* deve estar relacionado ao menor desenvolvimento observado nas plântulas, a partir do tratamento 1,0 mg/l. CARDENAS et al. (1968) constataram redução no conteúdo de proteínas nos cotilédones de *Xanthium* sp., tratados com 2,4-D. AYLING (1977) não observou alterações no conteúdo de proteínas nos embriões de *Pinus radiata*, tratados com o herbicida tordon 50D, embora o consumo de amido dos cotilédones tenha sido reduzido, devido à completa supressão de crescimento destes embriões. Não se encontrou na literatura consultada, informações sobre a presença de proteínas, na forma de "gotículas", nos cotilédones. Estudos devem ser conduzidos a este respeito.

KEY et al. (1966) citaram que o crescimento anormal, induzido pelo 2,4-D, resultava de uma alteração hormonal entre auxinas e citocininas. ROBNETT & MOREY (1973) também se referiram a esta mudança hormonal, após o tratamento com herbicida.

Assim, provavelmente, o 2,4-D provoca uma alteração hormonal na planta, o qual atua sobre o metabolismo dos ácidos nucléicos, alterando o crescimento. Sugere-se a realização de novas pesquisas sobre alterações anatômicas e ultra-estruturais provocadas pelo uso deste herbicida, associadas a estudos sobre o balanço hormonal destas plantas.

4 - CONCLUSÕES

O 2,4-D reduz o desenvolvimento do epicótilo e folhas primárias a partir da dosagem 0,1 mg/l e não afeta o desenvolvimento dos cotilédones. O herbicida, nas dosagens de 10 e 100 mg/l alteram a estrutura do ápice caulinar. A dosagem de 10 mg/l induz aumento na área do floema e reduz a área do xilema na região mediana do epicótilo. A partir da dosagem 0,1 mg/l, observa-se uma gradual compactação do mesofilo. O herbicida não afeta a estrutura da nervura principal e bordos das folhas primárias. O 2,4-D, a partir da dosagem 1,0 mg/l, inibe o consumo do material de reserva dos cotilédones.

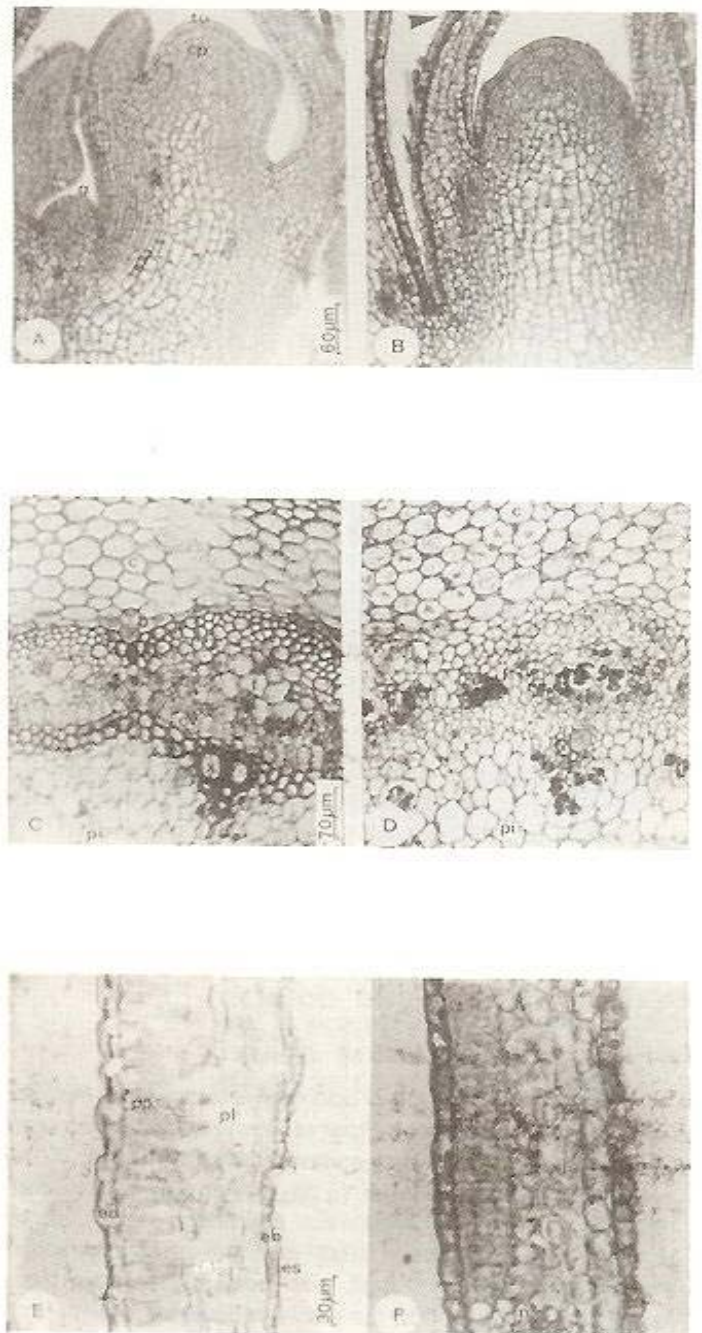


FIGURA 1 - Seções longitudinais radiais (A,B) e transversais (C-F) de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, com 15 dias de desenvolvimento. A,B-ápice caulinar; C,D-região mediana do epicótilo; E,F-região mediana do limbo das folhas primárias. A,C,E-testemunha; B-100 mg/l de 2,4-D; D-10 mg/l de 2,4-D; F-1,0 mg/l de 2,4-D. b-bainha amilífera; c-córtex; cp-corpo; cv-câmbio vascular; eb-epiderme abaxial; ed-epiderme adaxial; es-estômato; f-floema; fi-fibras; g-gemas; n-nervura de menor calibre; pi-medula; pi-parênquima lacunoso; pp-parênquima paliçádico; t-idioblasto tanífero; tu-túnica; x-xilema.

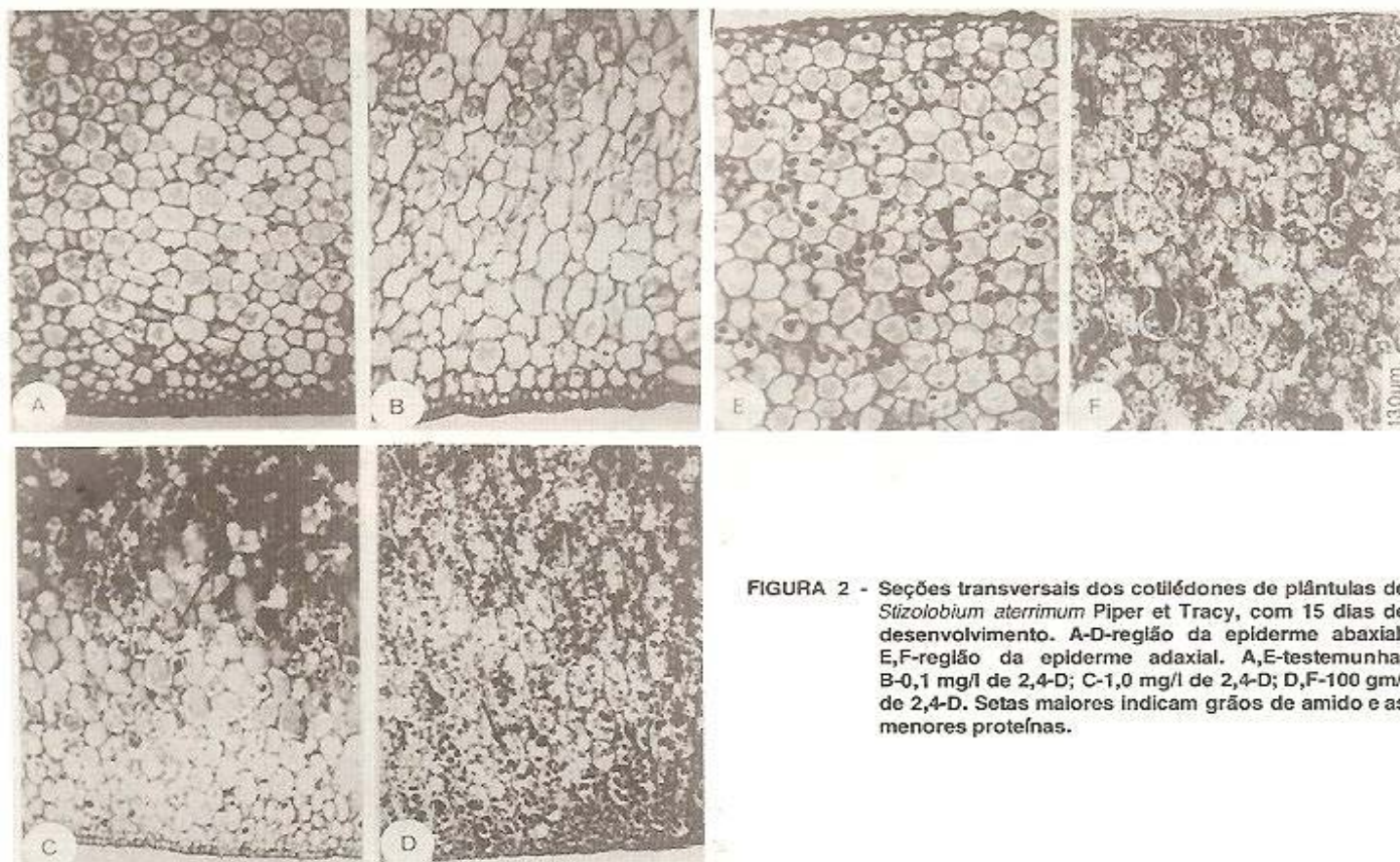


FIGURA 2 - Seções transversais dos cotilédones de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, com 15 dias de desenvolvimento. A-D-região da epiderme abaxial; E,F-região da epiderme adaxial. A,E-testemunha; B-0,1 mg/l de 2,4-D; C-1,0 mg/l de 2,4-D; D,F-100 gm/l de 2,4-D. Setas maiores indicam grãos de amido e as menores proteínas.

BIANCHINI, E.; CORSO, G.M. Effects of 2,4-D upon the anatomy of the epicotyl, cotyledon and primary leaves of seedlings of *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy. **Semina: Ci. Biol./Saúde**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 13 - 21, June 1992.

ABSTRACT

The effects of the 2,4-D upon the anatomy and the morphology of the epicotyl, cotyledon and primary leaves of seedlings of *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, were studied under laboratory conditions. On the sixth day after sowing, the seeds were transferred to glass bottles containing distilled water, 0.01; 0.10; 1.00; 10.00 or 100.00 mg/l solutions of the 2,4-D. The seedlings were collected for analyses 15 days after sowing. Inhibition in the development of the epicotyl occurred above the dosage of 0.10 mg/l, with concomitant anatomical alterations of the stem tips when treated with the dosages of 10.00 or 100.00 mg/l. In the middle region, only the dosage of 10.00 mg/l induced anatomical modifications. The herbicide inhibited the development of the epicotyl, in the treatment of 100.00 mg/l. The 2,4-D did not alter the size and structure of the cotyledons but inhibited the consumption of reserve material when at the greatest dosages. Above the level of 0.10 mg/l, it began a progressive reduction in the development of the primary leaves, which provoked a compaction of the mesophyll.

KEY-WORDS: 2,4-D; *Stizolobium aterrimum*; Plant anatomy

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APELBAUM, A.; BURG, S.P. Effect of ethylene on cell division and deoxyribonucleic acid synthesis in *Pisum sativum*. *Plant Physiol.*, v. 50, p. 117-124, 1972a.

———. Effects of ethylene and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on cellular expansion in *Pisum sativum*. *Plant Physiol.*, v. 50, p. 125-131, 1972b.

APELBAUM, A.; FISHER, J.B.; BURG, S.R. Effect of ethylene on cellular differentiation in etiolated pea seedlings. *Am. J. Bot.*, v. 59, n. 7, p. 697-705, 1972.

LETHAM, D.S.; TAO, G.Q.; PARKER, C.W. An overview of cytokinin metabolism. In: WAREING, P.F. *Plant Growth Substances*. London: Academic Press, 1982. p. 143-153.

MILLER, L. *Curso de microtécnica e fotomicrografia*. Piracicaba: ESALQ, 1968. (mimeogr.).

MURRAY, M.A.; WHITING, A.G. A comparison of the effectiveness of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and four of its salts in inducing histological response in bean plants. *Bot. Gaz.*, v. 109, p. 13-39, 1947.

Semina Ci. Biol./Saúde, Londrina, v. 13, n. 2, p. 13 - 21, jun. 1992

- AUDUS, J.L. *Herbicides, physiology, biochemistry, ecology*. 2. ed. London: Academic Press, 1976. v. 1. 608p.
- AYLING, R.D. Anatomical and histochemical changes in germinating seeds of *Pinus radiata* treated with tordon herbicides. *Can. J. Bot.*, v. 55, p. 1359-1372, 1977.
- BAKALE, V.; HADKE, S.M. Effects of herbicides 2,4-D, sodium arsenite and lasso on seedling anatomy of *Psoralea corylifolia* Linn. *J. Indian Bot. Soc.*, v. 59, p. 344-349, 1980.
- CARDENAS, J.; SLIFE, F.W.; HANSON, J.B.; BUTLER H. Physiological changes accompanying the death of cocklebur plants treated with 2,4-D. *Weed Sci.*, v. 16, p. 96-100, 1968.
- CORSO, G.M.; MACHADO, S.R.; SERRA, G.E.; FACTORI, V. Estudo anatômico comparativo entre formas normais e estruturais teratogênicas provocadas por 2,4-D em cana-de-açúcar. *Planta Daninha*, v. 3, n. 1, p. 41-47, 1980.
- DEUBER, R.; FORSTER, R.; SIGNORI, L.H. & MEDINA, D.M. Efeitos de herbicidas na anatomia de campim-carrapicho e amendoim-bravo. *Bragantia*, v. 36, n. 20, p. 207-213, ago. 1977.
- EAMES, A.J. Comparative effects of spray treatments with growth-regulating substances on the nut grass, *Cyperus rotundus* L., and anatomical modifications following treatment with butyl 2,4-dichlorophenoxyacetate. *Am. J. Bot.*, v. 36, p. 571-584, 1948.
- EVANS, M.L.; MULKEY, T.J. Comparative effects of auxin and abscisic acid on growth, hydrogen ion efflux and gravitropism in primary roots of maize. In: WAREING, P.F. *Plant Growth Substances*. London: Academic Press, 1982. p. 33-42.
- FELBER, I.M. The formation of protuberances on bean leaves in response to 2,4-D treatments. *Am. J. Bot.*, v. 35, n. 9, p. 555-558, 1948.
- GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 4. ed. Piracicaba: Nobel, 1978. 430p.
- JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- KEY, J.L.; LIN, C.Y.; GIFFORD JR, E.M.; DENGLER, R. Relation of 2,4-D-induced growth aberrations to changes in nucleic acid metabolism in soybean seedlings. *Bot. Gaz.*, v. 127, n. 2-3, p. 87-94, 1966.
- KOGAN, M. *Efecto del herbicida 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) en los principales procesos metabólicos de las plantas*. Piracicaba: ESALQ/CNEN, 1971. 40p. (mimeogr.)
- OSBORNE, D.J. The ethylene regulation of cell growth in specific target tissues of plants. In: WAREING, P.F. *Plant Growth Substances*. London: Academic Press, 1982. p. 279-290.
- PETERS, W.S.; SUMMERS, G.W. *Análise estatística e processo decisório*. Rio de Janeiro: Fund. Getúlio Vargas, 1973. 638p.
- ROBNETT, W.E.; MOREY, P.R. Wood formation in *Prosopis*: effect 2,4-D, 2,4,5-T and tiba. *Am. J. Bot.*, v. 60, n. 8, p. 745-754, 1973.
- RODELLA, R.A. *Efeitos da atrazina, da alaclora e do 2,4-D sobre características morfo-anatômicas e agrônômicas de Sorghum bicolor (L.) Moench*. Rio Claro, 1987. Tese (Doutorado) - Instituto Biociências. UNESP.
- ROESER, K.R. Die nadel der schwarzkiefer massenprodukt und kunstwerk der natur. *Mikrokosmos*, v. 61, n. 2, p. 33-36, 1972.
- SALGARE, S.A.; INDAR, R. Effect of 2,4-D on the anatomy of *Solanum xanthocarpum* Schrad & Wendl. *Indian J. Weed Sci.*, v. 17, n. 1, p. 22-28, 1985.
- STEVAUX, M.C.S. *Alguns efeitos do glifosato e do 2,4-D sobre o crescimento inicial da mucuna preta (Stizolobium aterrimum Piper et Tracy)*. Salvador, 1987. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia. Universidade Federal da Bahia.
- STRUCKMEYER, B.E. Comparative effects of growth substances on stem anatomy. In: SKOOG, F. *Plant Growth Substances*. Madison: Univ. Wisconsin Press, 1951. p. 167-174.
- SUNDARU, M.; BABA, I.; TANABE, T.; TAMAI, F.; MOTODA, Y. Effect of 2,4-D amine on top and root growth of Indonesian rice varieties with special reference to the change of root development behavior. *JPN. J. Crop Sci.*, v. 52, n. 1, p. 22-27, 1983.
- SWANSON, C.P. Histological responses of the kidney bean to aqueous sprays of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Bot. Gaz.*, v. 107, p. 522-531, 1946.
- WATSON, D.P. An anatomical study of the modification of bean leaves as a result of treatment with 2,4-D. *Am. J. Bot.*, v. 35, n. 9, p. 543-555, 1948.
- WEST, S.H.; HANSON, J.B.; KEY, J.L. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the nucleic acid and protein content of seedling tissue. *Weeds*, v. 8, n. 3, p. 333-340, 1960.
- WU, C.C.; KOZLOWSKI, T.T.; EVERT, R.F.; SASAKI, S. Effects of direct contact of *Pinus resinosa* seeds and young seedlings with 2,4-D or picloram on seedlings development. *Can. J. Bot.*, v. 49, n. 10, p. 1737-1741, oct. 1971.

Recebido para publicação em 30/10/1991