

ANÁLISE MORFOANATÔMICA E ULTRAESTRUTURAL DE *Calopogonium mucunoides* DESV. (FABACEAE) APÓS TRATAMENTO COM SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS E EXTRATO FOLIAR DE *Urochloa humidicola* (RENDLE) MORRONE & ZULOAGA

A.C.F. Sabaa Srur¹, R.B.B. Feitoza², H.R.P. Lima¹, D.R. Oliveira³, A.E.A. Oliveira⁴ & M. Da Cunha²

¹Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, UFRRJ, Seropédica, RJ, 23897-000; e-mail: acfsabaasrur@gmail.com

²Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Biociências e Biotecnologia, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 28013-602

³Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFRRJ, Seropédica, RJ, 23897-000;

⁴Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos, Centro de Biociências e Biotecnologia, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 28013-602.

INTRODUÇÃO

A pecuária no Brasil é dependente de espécies de gramíneas, sejam estas nativas ou exóticas, para formação de forragem para o gado, representando 90% da dieta desses animais (Bernardi *et al.* 2012). Uma dessas espécies é a *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga, também conhecida como capim-humidicola. Diferentes estudos têm destacado o potencial fitotóxico desta espécie, cujos extratos foliares contêm ácido *p*-cumárico, flavonas e flavonóis. A ocorrência de tais metabólitos pode justificar a dominância populacional de *Urochloa humidicola* sobre *Calopogonium mucunoides* Desv. (Fabaceae), espécie adotada em pastagens consorciadas para aumentar a produtividade de gramíneas forrageiras devido à capacidade de fixação de nitrogênio (Euclides *et al.* 1998). O objetivo do trabalho é avaliar o desenvolvimento inicial e caracterizar a anatomia e a ultraestrutura das raízes de *Calopogonium mucunoides* expostas a substâncias fenólicas do extrato foliar de *Urochloa humidicola* e dos diferentes tipos de substâncias fenólicas comercializadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o estudo fitoquímico, folhas de *U. humidicola* foram secas, trituradas e submetidas a extração por metanol, e ao fracionamento por solventes orgânicos de polaridade crescente, tendo sido recolhida a fração acetato de etila. Para realização dos bioensaios, sementes de *C. mucunoides* foram germinadas em placas de Petri 6 cm com fundo de papel filtro sob os seguintes tratamentos: água destilada (controle), extrato foliar de *U. humidicola* (UHF), ácido *p*-cumárico (APC), luteolina (LUT) e canferol (CAN), nas diluições de 125, 250, 500, 1000 e 2000 ppm. O experimento foi conduzido em câmaras de germinação a 25 °C e fotoperíodo 12/12 h. Após 10 dias de bioensaio, raízes e partes aéreas foram mensuradas e descritas. Fragmentos de duas regiões distintas da raiz (0-0,5 cm e 0,5-1,5 cm do ápice) foram processados segundo técnicas usuais em anatomia e ultraestrutura vegetal.

DISCUSSÃO E RESULTADOS

A fração acetato de etila do extrato de *U. humidicola* inibiu o comprimento do caule nos indivíduos de *C. mucunoides*, porém a mesma causou aumento do crescimento da raiz. O ácido *p*-cumárico causou maior inibição no crescimento caulinar e radicular em comparação com o controle. As raízes também apresentaram alterações morfológicas, como necrose no ápice e aumento do espessamento nessa região.

Os indivíduos controle, a 0,5 cm do ápice radicular, apresentaram estrutura anatômica de raiz primária, com regiões anatômicas definidas e xilema tetrarco evidente. Foram observados pelos absorventes e metaxilema central no mesmo tratamento na região entre 0,5-1,5 cm do ápice. O extrato de *U. humidicola* (1000 ppm) causou aumento da espessura da parede da exoderme, a 0,5-1,5 cm do ápice. O ácido *p*-cumárico (1000 e 2000 ppm) causou início de formação de estrutura secundária de raiz, com maior largura da região cortical e do cilindro central, e atuação do câmbio e produção do xilema secundário. Indivíduos crescidos em ácido *p*-cumárico, também apresentaram uma estrutura caulinar, tanto a 0,5 cm quanto entre 0,5-1,5 cm do ápice, com formação de feixes condutores colaterais e presença de parênquima medular. Trabalhos anteriores indicam que o ácido *p*-cumárico é um potente inibidor do desenvolvimento inicial de plântulas, dando origem a raízes curtas, espessas e com necrose no ápice (Chon *et al.* 2002; Feitoza *et al.* 2018). A luteolina a 1000 ppm não apresentou efeito significativo sobre o comprimento total de *C. mucunoides*, apesar da interferência negativa relativa ao alongamento caulinar. Por outro lado, os tratamentos com canferol (500 e 1000 ppm) causaram inibição do crescimento da plântula como um todo. Ambos os flavonoides causaram redução do diâmetro das raízes, efeito oposto ao observado para o ácido *p*-cumárico.

A ultraestrutura celular em raízes controle de *C. mucunoides* foi alterada de acordo com o tratamento. Nos indivíduos controle, as estruturas endomembranares como mitocôndrias, plastídeos e membrana nuclear se apresentaram íntegras. O tratamento com o extrato de *U. humidicola* causou aumento na produção de vesículas a partir da membrana plasmática e condensação da cromatina. O ácido *p*-cumárico (500 e 2000 ppm) causou degradação das cristas mitocondriais e núcleo, e acúmulo de depósitos densos osmiofílicos junto às membranas plasmática e vacuolar. As células tratadas com canferol apresentaram citoplasma granulado e núcleo visivelmente degradado. Essas observações corroboram outras análises ultraestruturais após tratamento com outros ácidos fenólicos (Araniti *et al.* 2018; Feitoza *et al.* 2018). Contudo, o tratamento com luteolina não causou nenhuma alteração em nível celular, com as estruturas endomembranares e núcleo se mostrando íntegros.

CONCLUSÃO

O ácido *p*-cumárico, substância fenólica presente nas folhas de *U. humidicola*, isoladamente afeta o desenvolvimento inicial, a anatomia e a ultraestrutura celular em raízes de *C. mucunoides*. O flavonol canferol inibiu o crescimento longitudinal e causou degradação do núcleo, enquanto a flavona luteolina não causou qualquer alteração estrutural ou ultraestrutural, evidenciando o efeito antagônico entre os dois flavonoides. Por fim, o extrato de folhas de *U. humidicola* causou alterações ultraestruturais menos marcantes que o observado após tratamento com o ácido *p*-cumárico, possivelmente por possíveis interações antagônicas entre esse fenol e demais substâncias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARANITI, F.; COSTAS-GIL, A.; CABEIRAS-FREIJANES, L.; LUPINI, A.; SUNSERI, F.; REIGOSA, M.J.; ABENAVOLI, M.R.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.M. 2018. Rosmarinic acid induces programmed cell death in Arabidopsis seedlings through reactive oxygen species and mitochondrial. *PLoS One*, v. 13, n. 12, e0208802.

BERNARDI, A.C.C.; OLIVEIRA, P.P.A.; PRIMAVESI, O. 2012. Soil fertility of tropical intensively managed forage system for grazing cattle in Brazil in: Whalen J.K. (ed.) *Soil fertility improvement and integrated nutrient management: A global perspective*

CHON, S.U.; CHOI, S.K.; JUNG, S.; JANG, H.G.; PYO, B.S.; KIM, S.M. 2002. Effects of alfafa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfafa and barnyard grass. *Crop Protection*, v.21: p.1077–1082.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. 1998. Produção de bovinos em pastagens de *Brachiaria* spp. consorciadas com *Calopogonium mucunoides* nos Cerrados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.27: p.238-245.

FEITOZA, R.B.B.; LIMA, H.R.P.; OLIVEIRA, E.A.G.; OLIVEIRA, D.R.; MORAES, L.F.D.; OLIVEIRA, A.E.A.; CARVALHO, M.G.; DA CUNHA, M. 2018. Structural and ultrastructural variations in roots of *Calopogonium mucunoides* Desv. treated with phenolic compounds from *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga and phenolic commercial standards. *South African Journal of Botany*, v.116: p.142-149.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio das agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo auxílio financeiro.