

VARIAÇÃO DE ÍNDICE MITÓTICO SOB DIFERENTES TITULAÇÕES DE pH EM RAÍZES DE *Allium cepa* L. (1758) VAR. *Baia periforme*.

FLORES-LOPES, FÁBIO*
LOCH, DIONÍSIO**

RESUMO

Estudos foram realizados anteriormente sobre a influência de fatores exógenos na fisiologia do crescimento radicular de *Allium cepa* L. var. *Baia periforme*. O objetivo deste trabalho foi analisar as variações no número de fases mitóticas nas diferentes titulações de pH e relacionar esta variação com a diminuição ou elevação do pH. Foram utilizadas raízes, de um total de 36 bulbos, do oitavo, décimo sexto e vigésimo quarto dias de exposição a soluções com titulações de pH e testemunhos com pH normal da água destilada. Foram observadas variações no número de fases mitóticas dos testemunhos em relação às titulações de pH utilizadas e estas entre si. Uma relação entre as variações no número de fases mitóticas e as diferentes titulações de pH foi estabelecida. Na realização dos experimentos, foi observado que a temperatura influenciou no crescimento e divisão celular das raízes, e as análises histológica e estatística realizadas mostraram que o pH influenciou o número de fases mitóticas durante o experimento.

PALAVRAS-CHAVE: *Allium cepa*, pH, divisão celular.

ABSTRACT

Previous studies were conducted about the influence of exogenous factors on the physiology of the radicular growth of *Allium cepa* L. var. *baia periforme*. The objective of this work was to analyze the variations of the number of mitotic phases on the different tips on pH and relate this variation with the decrease or elevation of pH. Roots were used, of a total of 36 bulbs, of the eighth, sixteenth and twentieth fourth days of exposure to solutions with tips of pH and control with the distilled water at normal pH. Variations were observed in the number of mitotic phases of the control in relation to the tips of used pH and these to each other. A relation among the variations in the number of mitotic phases and the different tips of pH was established. During the experiments, it was observed that the temperature influenced the growth and cellular division of the roots, and the histological and statistic analyses showed that the pH influenced on the alteration of the number of mitotic phases during the experiment.

KEY-WORDS: *Allium cepa*, pH, cell division.

* Biólogo; email: andrelopes@cgmo-rq.com.br

** Professor do Departamento de Ciências Morfo-Biológicas – FURG.

1 – INTRODUÇÃO

De acordo com Caten e Lucia (1982), a cebola está entre as primeiras plantas que o homem aprendeu a cultivar, embora pouco se saiba sobre sua origem. A identificação sistemática da espécie foi feita pela primeira vez no Rio Grande do Sul, segundo Reitz (1950), em 1942, na cidade de São Leopoldo, sendo determinada pelo padre Balduino Rambo. Trata-se de uma planta hortaliça e herbácea, que apresenta um sistema radicular fasciculado e um bulbo tunicado (Caten e Lucia, 1982).

Para Esau (1974), em função da organização extremamente simples do ápice da raiz, este se constitui no material preferido para estudos do crescimento de organismos multicelulares. Segundo Raven et al. (1976), a região meristemática da raiz compreende o meristema apical e a porção proximal, onde ocorre a divisão celular. O meristema apical apresenta-se composto de células poligonais, relativamente pequenas, com denso citoplasma e grandes núcleos.

Autores como Brown (1951) e Jensen e Kavaljian (1958) relataram que alguns itens devem ser considerados quando se estuda um sistema de meristema de raiz: 1) a incidência de periodicidade mitótica; 2) a influência de uma célula na célula adjacente; 3) a relação das células filhas para com as células subseqüentes e 4) o efeito das diferentes zonas do meristema. Brown (1951) e Jensen e Kavaljian (1958) mostraram que ocorrem ciclos diurnos e noturnos de figuras mitóticas e que estas tendem a ocorrer em grupos no meristema (Figura 1), e que a posição sugere que a atividade mitótica em uma célula pode influenciar a célula vizinha. Thompson e Clowes (1968), ao estudarem raízes de *Allium sativum*, estabeleceram que o índice de entrada em metáfase equivale ao índice de entrada de células em mitose.

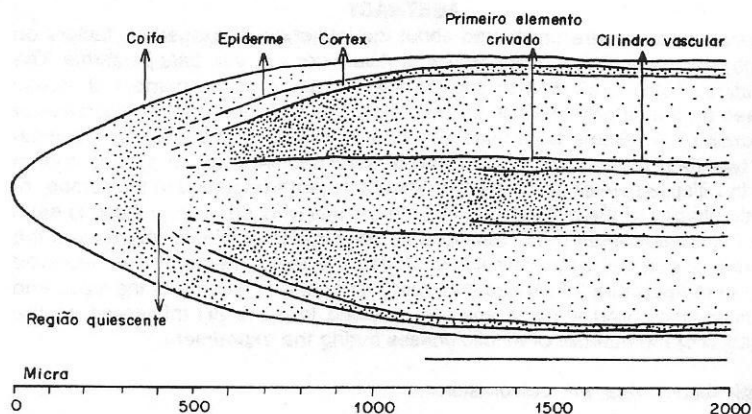


FIGURA 1 – Diagrama do ápice da raiz de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em corte longitudinal, ilustrando os locais de maior intensidade de divisão celular (Segundo Jensen e Kavaljian, 1958).

O objetivo deste trabalho foi demonstrar, através da histologia, as variações no número de fases mitóticas que ocorreram nas raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* expostas a diferentes titulações de pH e relacionar estas variações a diminuição e elevação do pH.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

Para estudo foram utilizados 36 bulbos da espécie *Allium cepa* var. *Baia periforme*, de procedência do município de São José do Norte e cedidas pela EMATER. A fim de que ocorresse a quebra da dormência, os bulbos permaneceram no refrigerador, a temperatura de 5° C, por um período de quatro dias. Para o desenvolvimento das raízes, os bulbos foram colocados em recipientes de vidro com água destilada, sem que tocassem o líquido, durante uma semana (Figura 2).

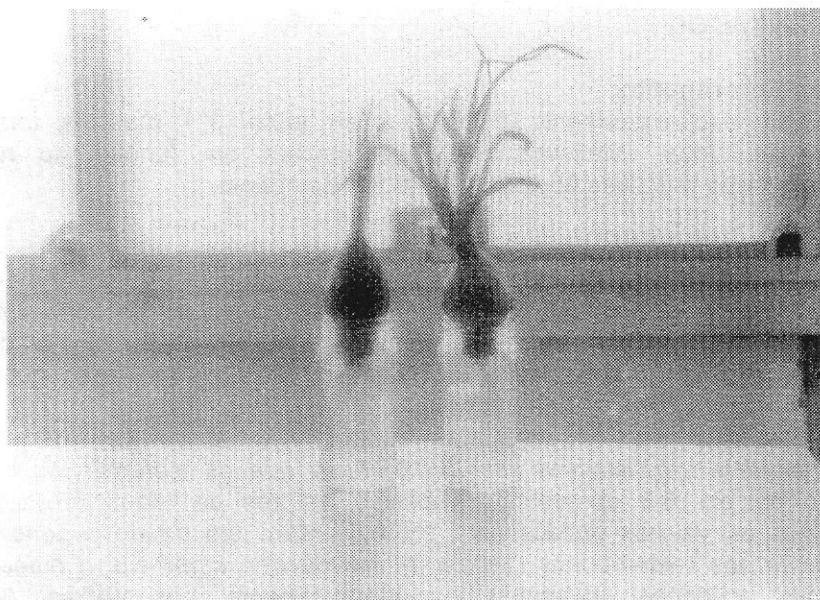


FIGURA 2 – Recipientes de vidro com bulbos de *Allium cepa* var. *Baia periforme* na extremidade aberta. As raízes aparecem mergulhadas em soluções de água destilada e diferentes titulações de pH.

As soluções foram renovadas a cada semana, de acordo com Arnom e Johnson (1942), que estabeleceram titulações com pH 3,5 pela adição de ácido clorídrico e titulações com pH 6,5 e pH 9,0 pela adição de hidróxido

de sódio 1N. As repetições apresentavam sempre um número de nove recipientes para cada titulação, assim como para os testemunhos, que continham água destilada.

Para coleta, foram retiradas três raízes de cada repetição, sempre pela manhã, uma vez por semana e durante um mês. De acordo com Jensen e Kavaljian (1958), cada coleta foi realizada em repetições diferentes e sempre com medidas entre 1 e 1,5cm, fixadas em Carnoy por um período de seis horas. A observação histológica foi feita através de esmagamento da raiz entre lâmina e lamínula e coloração do material com orceína acética. As lâminas foram observadas em microscópio ótico binocular. Os casos selecionados foram fotografados em fotomicroscópio.

A análise estatística foi realizada de acordo com Sokal e Rohlf (1969), através de teste T para diferença de médias e análise de variância com nível de significância de 95%.

3 – RESULTADOS

Primeiro experimento:

O primeiro experimento foi realizado em julho/1991, mas não foram obtidos resultados estatisticamente significativos em função de não ocorrerem fases mitóticas no ápice das raízes de cebola.

Segundo experimento:

No segundo experimento, realizado em fevereiro/1992, observou-se que as raízes apresentavam uma coloração branca e um tamanho entre 5 e 10cm de comprimento. Em todas as titulações de pH e nos testemunhos foram observadas poucas raízes, com uma média de quatro raízes por bulbo.

No oitavo dia, os resultados obtidos não foram considerados estatisticamente significativos para $p > 0,05$, já que os testemunhos e a titulação de pH 6,5 apresentavam baixos valores de fases mitóticas, sendo que os valores obtidos para pH 6,5 foram um pouco superiores em relação aos testemunhos (Tabela 1). No décimo sexto dia, o número de fases mitóticas aumentou consideravelmente nas raízes dos testemunhos e nas raízes da titulação de pH 3,5 (Tabela 2), fazendo com que a comparação entre as médias seja estatisticamente significativa para $p > 0,05$. No vigésimo quarto dia, o resultado também foi estatisticamente significativo para $p > 0,05$, em função de as médias serem semelhante às da semana anterior, ou seja, as médias de fases mitóticas eram maiores nos testemunhos e na titulação de pH 3,5 (Tabela 3).

TABELA 1 – Segundo experimento de contagem das fases de divisão celular em raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em diferentes pH; oitavo dia. A, B e C = repetições; X = Média das repetições; P = Prófase; M = Metáfase; A = Anáfase; T = Telófase.

Testemunhos				
	A	B	C	X
P	6	2	4	4,00
M	0	1	0	0,33
A	0	0	0	0
T	0	0	0	0

pH 3,5				
	A	B	C	X
P	0	0	0	0
M	0	0	0	0
A	0	0	0	0
T	0	0	0	0

pH 6,5				
	A	B	C	X
P	5	34	0	13,00
M	4	8	0	4,00
A	0	2	0	0,66
T	0	0	0	0

pH 9,0				
	A	B	C	X
P	0	0	0	0
M	0	0	0	0
A	0	0	0	0
T	0	0	0	0

Tabela 2 – Segundo experimento de contagem das fases de divisão celular em raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em diferentes pH; décimo sexto dia. A, B e C = repetições; X = Média das repetições; P = Prófase; M = Metáfase; A = Anáfase; T = Telófase.

Testemunhos				
	A	B	C	X
P	208	8	17	77,66
M	88	0	0	29,33
A	75	0	2	25,66
T	13	0	0	4,33

pH 3,5				
	A	B	C	X
P	0	294	266	186,66
M	0	103	72	58,33
A	0	96	68	54,66
T	0	16	8	8,00

pH 6,5				
	A	B	C	X
P	10	5	8	7,66
M	0	0	1	0,33
A	0	0	1	0,33
T	0	0	0	0

pH 9,0				
	A	B	C	X
P	30	12	37	26,33
M	1	4	11	5,33
A	1	2	10	4,33
T	0	0	0	0,33

TABELA 3 – Segundo experimento de contagem das fases de divisão celular em raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em diferentes pH; vigésimo quarto dia. A, B e C = repetições; X = Média das repetições; P = Prófase; M = Metáfase; A = Anáfase; T = Telófase.

Testemunhos				
	A	B	C	X
P	247	92	115	151,3 3
M	76	42	82	66,66
A	59	33	46	46,00
T	12	7	10	9,66

pH 3,5				
	A	B	C	X
P	36	264	221	173,6 6
M	17	93	67	59,00
A	23	79	46	49,33
T	4	9	15	9,33

pH 6,5				
	A	B	C	X
P	8	16	4	9,33
M	3	5	1	3,00
A	0	1	2	1,00
T	0	0	0	0

pH 9,0				
	A	B	C	X
P	14	26	9	16,33
M	0	5	2	2,33
A	0	1	6	2,33
T	0	1	1	0,66

Terceiro experimento:

No terceiro experimento, realizado em maio/1992, os bulbos apresentavam raízes de coloração branca e tamanhos entre 10 e 15cm de comprimento. Os bulbos das repetições de pH 3,5, pH 6,5 e pH 9,0 apresentavam um número menor de raízes em relação aos testemunhos, já que os das titulações possuíam uma média de 10 raízes para pH 3,5 e 6,5 e 5 raízes para pH 9,0, enquanto os testemunhos possuíam 15 raízes em média.

No oitavo dia, a titulação de pH 6,5 mostrou um número extremamente reduzido de fases mitóticas em relação às outras titulações e aos testemunhos. As médias das titulações de pH 3,5 e pH 9,0 apresentavam-se bem superiores às demais, e junto com os testemunhos foram consideradas estatisticamente significativas para $p > 0,05$ (Tabela 4). No décimo sexto dia, as médias de fases mitóticas dos testemunhos e da titulação de pH 6,5 mostraram-se estatisticamente significativas para $p > 0,05$, em função de suas médias serem mais elevadas em relação às demais (Tabela 5). No vigésimo quarto dia, houve uma redução no número de fases mitóticas nas titulações de pH. Apenas nos testemunhos foram observadas médias altas de fases mitóticas, o que fez com que apenas estes fossem considerados estatisticamente significativos para $p > 0,05$ (Tabela 6).

TABELA 4 – Terceiro experimento de contagem das fases de divisão celular em raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em diferentes pH; oitavo dia. A, B e C = repetições; X = Média das repetições; P = Prófase; M = Metáfase; A = Anáfase; T = Telófase.

Testemunhos				
	A	B	C	X
P	178	9	19	68,66
M	72	0	0	24
A	64	0	3	22,33
T	16	0	0	5,33

pH 3,5				
	A	B	C	X
P	0	279	254	177,66
M	0	101	74	58,33
A	0	89	63	50,66
T	0	12	7	6,33

pH 6,5				
	A	B	C	X
P	5	9	6	6,66
M	0	1	0	0,33
A	0	0	0	0
T	0	0	0	0

pH 9,0				
	A	B	C	X
P	162	114	182	152,66
M	14	19	24	19,00
A	26	8	22	18,66
T	6	6	8	6,66

TABELA 5 – Terceiro experimento de contagem das fases de divisão celular em raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em diferentes pH; décimo sexto dia. A, B e C = repetições; X = Média das repetições; P = Prófase; M = Metáfase; A = Anáfase; T = Telófase.

Testemunhos				
	A	B	C	X
P	168	144	130	147,33
M	17	51	43	37,00
A	21	33	29	27,66
T	7	14	9	10,00

pH 3,5				
	A	B	C	X
P	2	5	3	3,33
M	0	0	0	0
A	0	0	0	0
T	0	0	0	0

pH 6,5				
	A	B	C	X
P	179	126	164	156,33
M	48	49	57	51,33
A	32	30	32	31,33
T	4	12	9	8,33

pH 9,0				
	A	B	C	X
P	15	4	26	15,00
M	8	1	7	5,33
A	6	0	9	5,00
T	5	0	4	3,00

TABELA 6 – Terceiro experimento de contagem das fases de divisão celular em raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme* em diferentes pH; vigésimo quarto dia. A, B e C = repetições; X = Média das repetições; P = Prófase; M = Metáfase; A = Anáfase; T = Telófase.

Testemunhos				
	A	B	C	X
P	206	181	243	210,00
M	46	62	96	68,00
A	28	44	58	43,33
T	11	12	23	15,33

pH 3,5				
	A	B	C	X
P	3	16	4	7,66
M	0	3	0	1,00
A	1	0	0	0,33
T	1	1	0	0,66

pH 6,5				
	A	B	C	X
P	3	1	7	3,66
M	0	0	1	0,33
A	0	0	0	0
T	0	0	0	0

pH 9,0				
	A	B	C	X
P	6	11	17	11,33
M	3	2	9	4,66
A	0	0	3	1,00
T	0	0	2	0,66

4 – DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

A análise histológica realizada permitiu verificar que as fases mitóticas tendem a ocorrer em grupos, concordando com o que foi descrito por Brown (1951) e Jensen e Kavaljian (1958), que mostraram que as divisões celulares ocorrem em áreas específicas de alguns tecidos, principalmente nas células corticais que se localizam perto do tecido vascular.

De acordo com Brown (1951), a zona de maior frequência de fases mitóticas tende a ser a zona imediatamente acima da cobertura da raiz, o que concorda com os resultados obtidos em nosso estudo. Para Jensen e Kavaljian (1958), esta zona está situada abaixo dos 0,5cm e Raven et al. (1976) mostraram que ela varia intra e interespecificamente. Em nosso estudo, esta região fica compreendida entre os extremos de máxima (0,5cm) e mínima (2,0cm) frequência de divisões celulares.

A análise estatística para o segundo experimento mostrou que as médias de fases mitóticas são praticamente as mesmas, sendo diferentes apenas as do oitavo dia. Como se observa nas tabelas 1, 2 e 3, as médias das fases mitóticas nos testemunhos, no oitavo dia, no décimo sexto dia e no vigésimo quarto dia, são diferentes e bem superiores uma às outras, ou seja, aumentam à medida que aumenta o tempo de exposição das raízes à solução de água destilada, o que não acontece com as médias das raízes que estavam expostas a soluções com diferentes titulações de pH.

Quando se relacionam as médias das fases mitóticas dos testemunhos com as das diferentes titulações de pH, elas são muito semelhantes estatisticamente, o que também se observa quando se relacionam as médias das titulações de pH entre si, mostrando que há pouca influência de pH no experimento. Com base nestes resultados, observamos que, para o segundo experimento, as soluções com diferentes titulações de pH praticamente não influenciaram o índice mitótico das raízes de *Allium cepa* var. *Baia periforme*. Autores como Brown (1951), Jacobson et al. (1957) e Caten e Lucia (1982) salientaram a influência da temperatura no crescimento e divisão celular das raízes, sendo um fator significativo para fases como prófase, metáfase e telófase, o que também foi observado em nossos estudos.

A análise estatística realizada para o terceiro experimento mostrou que as médias dos testemunhos, para cada dia de coleta, são diferentes das médias das titulações de pH, mostrando que houve uma influência de pH sobre a divisão celular nas raízes de *Allium cepa*. Isto foi comprovado quando relacionamos as médias dos testemunhos com as médias das demais titulações de pH e observando que houve influência de pH nas fases de prófase, metáfase e anáfase, sendo exercida pouca influência em telófase.

O teste de médias mostrou que quando relacionamos os testemunhos com as diferentes titulações de pH, o pH teve uma influência significativa nas fases de prófase e metáfase, já que as médias dos testemunhos foram bem superiores às demais, demonstrando uma variação no índice mitótico. Para anáfase, a variação não foi tão acentuada, e praticamente não observada em telófase. De acordo com Thompson e Clowes (1968), a alteração na entrada de células em metáfase constata uma variação no índice mitótico.

Para Jacobson et al. (1957) e Rains et al. (1964), a concentração do íon hidrogênio indica que sua atividade influencia a absorção de íons, o crescimento e a ecologia das plantas. Para Rains et al. (1964), um menor pH da solução externa pode reduzir a taxa de absorção de cátions pela competição entre íons hidrogênio e os cátions substratos para os sítios transportadores disponíveis.

As raízes de plantas como tomate, alface e *Bermuda grass*, segundo Arnon et al. (1942), foram incapazes de crescer depois de imersas e mantidas em soluções com pH 3,0. Em pH 9,0, as raízes apresentaram um crescimento reduzido e danos causados pela concentração do íon hidrogênio. Também estudando tomate, alface e *Bermuda grass*, Arnon et al. (1942) observaram uma incapacidade de crescimento e redução na absorção de íons como cálcio e fosfato em pH 3,0, o que em pH 9,0 foi pouco observado, apresentando um efeito mais nítido na absorção de fosfato. Em nossos estudos também verificamos que as raízes foram incapazes de crescer ou apresentaram um crescimento reduzido quando imersas em soluções de pH 3,5 e 9,0.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Dario Kuntz de Moraes e às Professoras Clélia Maria Paixão Pereira, Cristina Maria Loyola Zardo, Mara Perazzolo Silva, à oceanóloga Maria Lucia Góes de Araújo e aos técnicos João Cassimiro Mendonça Soares, Maria Inês Almeida Santos e Pedro Antônio Garcia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNON, D. I., JOHNSON, C. M. Influence of hydrogen ion concentration on the growth of higher plants under controlled conditions. *Plant Physiol.*, n. 17, p. 525-539, 1942.
- ARNON, D. I., FRATZKE, W. E., JOHNSON, C. M. Hydrogen ion concentration in relation to absorption of inorganic nutrients by higher plants. *Plant Physiol.*, n. 17, p. 515-524, 1942.
- BROWN, R. The effect of temperature on the duration of the different stages of cell division in the root tip. *J. Exp. Bot.*, n. 2, p. 96-110, 1951.
- CATEN, R. T., LUCIA, T. *Cultura da cebola no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre : EMATER, 1982. 93 p.
- ESAU, K. *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo: EDUSP, 1974. p. 135-148.
- JACOBSON, L., OVERSTREET, R., CARLSON, R.,M., CHASTAIN, J. A. The effect of pH and temperature on the absorption of potassium and bromide by barley roots. *Plant Physiol.*, n. 32, p. 658-662, 1957.
- JENSEN, W. A., KAVALJIAN, L. G. an analysis of cell morphology and the periodicity of division in the root tip of *Allium cepa*. *Amer. Jour. Bot.*, n. 45, p. 365-372, 1958
- RAINS, D. W., SCHIMID, W. E., EPSTEIN, E. Absorption of cations by roots. Effect of hydrogen ion and essential role of calcium. *Plant Physiol.*, n. 39, p. 274-278, 1964.
- RAVEN, P. H., EVERT, R. F., CURTIS, H. *Biologia vegetal*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1976. p. 447-448.
- REITZ, P. R. Cebola. *An. Bot. Herb. B. R.*, n. 2, p. 94-95, 1950.
- SOKAL, R. R., ROHLF, F.J. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco: W. H. Freeman and Co., 1969. 776 p.
- THOMPSON, J., CLOWES, F. A. L. The quiescent center and rates of mitosis in the root meristem of *Allium sativum*. *Am. Bot. N. S.*, n. 32, p. 1-13, 1968.

Recebido: 12/09/00

Aceito: 18/10/00