

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas

INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 13

Campinas, outubro de 1954

N.º 23

A OCORRÊNCIA DE PLASMODESMAS NO ENDOSPERMA DE *COFFEA ARABICA* L. VAR. *TYPICA* CRAMER(*)

G. C. DE MELLO AYRES

Engenheiro-agrônomo, Seção de Botânica, Instituto Agronômico de Campinas

RESUMO

O endosperma de café, tratado segundo a técnica utilizada por Crafts nos seus estudos com *Solanum tuberosum* L., evidenciou a ocorrência de plasmodesmas nas paredes de suas células. Estes plasmodesmas apresentam-se como filamentos tênues, na maioria dos casos geniculados e agregados em grupos, localizados nos "campos de pontuações primárias".

O aspecto, a morfologia, a freqüência e a distribuição dos plasmodesmas, no endosperma de café, são sensivelmente semelhantes às estruturas vistas e descritas por Quisumbing, em *Diospyros kaki* L.

1 - INTRODUÇÃO

A ocorrência de plasmodesmas — estruturas que estabelecem o contacto direto entre os protoplastas de células adjacentes, através das paredes que os separam — foi pela primeira vez verificada por Tangl, em 1879, trabalhando com *Strychnos nux-vomica* L., *Areca oleracea* Jacq. e *Phoenix dactylifera* L. (4).

A importância fisiológica dos plasmodesmas salienta-se quando se constata sua presença em tecidos de grande responsabilidade na fisiologia vegetal. De fato, os plasmodesmas ocorrem, salvo exceções, em células de paredes primárias, de natureza celulósica, portanto, em tecidos vivos (meristemas, parênquima de reserva, etc.) que desempenham papel ativo no metabolismo da planta.

Ocorrendo em paredes de condição primária, os plasmodesmas localizam-se com maior freqüência nos **campos de pontuações primárias**, isto é, em regiões mais delgadas da parede celular. Atribuem-se aos plasmodesmas importantes funções, tais como a de translocação de substâncias nutritivas, como sugere Haberlandt, o que parece encontrar afirmativa na freqüente ocorrência dessas conexões citoplasmáticas no endosperma e nos tecidos de reserva dos tubérculos, como é o caso da batatinha (*Solanum*

(*) Recebido para publicação em 8 de junho de 1954.

tuberosum L.) (2). Segundo Livingston (3), a perfeita harmonia existente entre a célula, o tecido e o órgão, fato responsável pelo equilíbrio nas funções vitais do organismo, seria permitida pelos plasmodesmas, atribuindo ainda o mesmo autor às conexões citoplasmáticas a translocação de vírus de célula para célula. Haberlandt, que aceita a correlação entre plasmodesma e translocação de substâncias diversas, admite também que os estímulos internos e externos são transmitidos pelo corpo da planta, através dos plasmodesmas. À parte da questão especulativa sobre as verdadeiras funções dos plasmodesmas, cumpre ressaltar a importante contribuição que o estudo dessas estruturas veio emprestar ao atual conceito de célula, segundo o qual a parede celular é uma parte essencial da mesma e não apenas uma excreção sem vida do protoplasma, tal como preconizavam as teorias antigas.

2 - MATERIAL E MÉTODO

O material utilizado na presente investigação — endosperma de *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer — sofreu uma série de tratamentos, segundo o método utilizado por Crafts (1), em suas pesquisas com tubérculos de batatinha (*Solanum tuberosum* L.), apenas com leves alterações nos tempos de imersão dos cortes nas diferentes soluções, o que resultou em melhores contrastes ópticos, quando do exame microscópico.

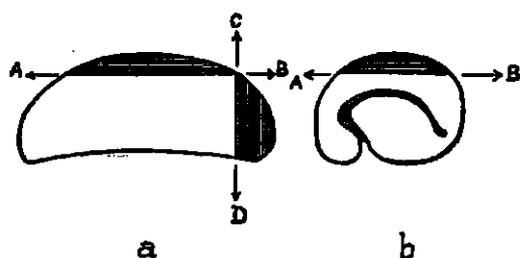


FIGURA 1. — Desenho esquemático mostrando como a semente deve ser aparada a fim de se obter melhor ajuste do material a ser seccionado no micrótomo. a — vista lateral; b — vista frontal.

Cortes — Os cortes foram obtidos de sementes já secas (endosperma côr-de-cana), que não sofreram qualquer tratamento prévio. Retirados o pergaminho e a película prateada, seccionou-se a superfície convexa da semente, de modo a conferir-lhe duas superfícies paralelas, o que facilitou seu ajuste ao micrótomo (fig. 1, a e b). A espessura dos cortes transversais, que foram os empregados, variou de 10 a 15 micros.

Fixação, Coloração e Montagem — Os cortes foram transferidos

sucessivamente para vidros de relógio contendo as diversas soluções, por meio de pincel de pêlo de camelo. A série de tratamentos seguida, com os respectivos tempos de imersão nas diferentes soluções, é dada a seguir.

a) Fixativo (1)	KI -----	0,75 g
(10 minutos)	Iodo -----	0,50 g
	Água dest. -----	100 cc
b) Lavagem	10 minutos em H ₂ SO ₄ a 10%	
c) Mordente	KI -----	1,25 g
(10 minutos)	Iodo -----	1,00 g
	H ₂ SO ₄ a 5% -----	100 cc

(1) Todas as soluções contendo iodo devem ser conservadas em frascos escuros.

- d) Descoloração 30 segundos a 1 minuto em 1 cc de H_2SO_4 a 5%
- e) Contra-coloração Gotas de uma solução aquosa de violeta-genciana a 0,5%, sôbre o H_2SO_4 a 5%, até coloração verde-escura da mistura resultante.
- f) Segunda Lavagem
- | | | | |
|-------------------|-------|--------|----|
| Glicerina | ----- | 30 | cc |
| ZnCl ₂ | ----- | 2,0 | g |
| Iodo | ----- | 0,2 | g |
| KI | ----- | traços | |
| Água dest. | ----- | 60 | cc |

Nesta última operação o material mergulhado na solução apresentava-se escuro, devido à presença de precipitados diversos ; êsses precipitados foram removidos delicadamente, para evitar ruptura dos cortes, com um pincel de pêlo de camelo. Uma vez limpos, nas suas duas superfícies, os cortes foram montados em uma gôta da última solução (f), em lâminas de vidro, e recobertos com lamínula, obtendo-se assim preparações semi-permanentes. O seu estudo foi realizado com microscópio Leitz, Ortholux, objetivas 45:1 e imersão (100:1) combinadas com as oculares 15x e 6x, respectivamente.

3 - DISCUSSÃO

No exame das lâminas deve-se levar em consideração certos fatores que, se mal interpretados, podem conduzir o observador a conclusões errôneas, visto que durante o seu preparo se formam várias estruturas que assumem o aspecto de verdadeiros plasmodesmas.

Segundo Meeuse (4), estas estruturas são de duas categorias : A) variações estruturais das paredes celulares que se tornam evidentes, após o preparo do material, por exemplo : a) cavidades estreitas e longas das pontuações ; b) variações na quantidade de celulose, provocando diferentes tonalidades de coloração ; c) granulações dispostas em linhas, etc. ; B) estruturas desenvolvidas acidentalmente, durante a técnica de preparo e deficiência de focalização : a) estrias causadas pela navalha do micrótomo, ao cortar um tecido rijo, como é geralmente o endosperma ; b) cristais de iodo ; c) granulações coloridas que, mal focalizadas, sugerem estrias ou linhas mais escuras ; d) partículas de pó, ou bactérias ; e) filamentos de protoplasma, presentes após a plasmólise, entre as paredes e o citoplasma contraído.

O estudo das lâminas preparadas com o endosperma de *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer, revelou a constituição anatômica descrita a seguir.

- A — Endosperma constituído por células irregulares no tamanho e na forma, não havendo correlação entre o tamanho das células e suas posições ; células maiores aparecem ao lado de células menores.
- B — Paredes celulares espessas (porém, de natureza celulósica e de condição primária), com numerosos e visíveis **campos de pontuações primárias**.

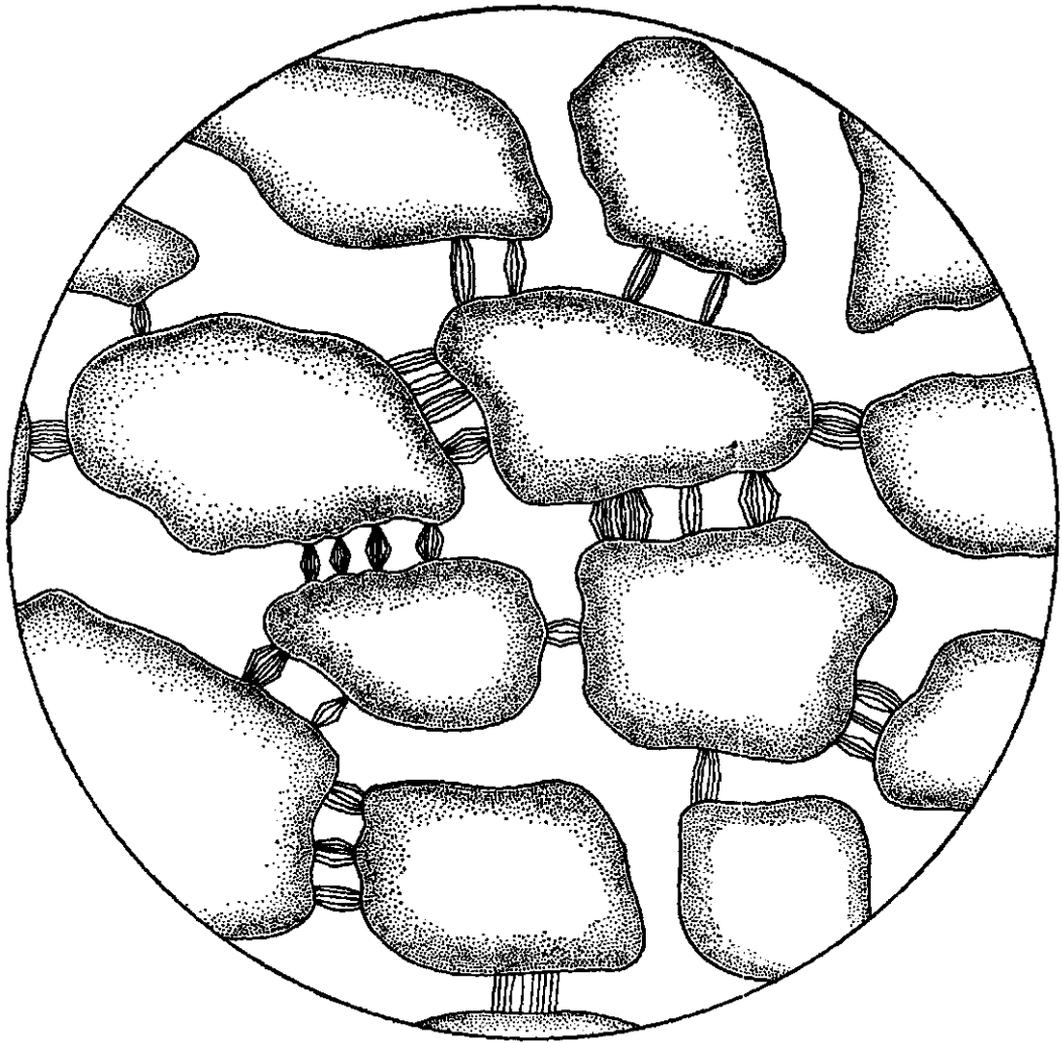


FIGURA 2. — Células endospermicas de *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer mostrando os plasmodesmas nas suas paredes. Observe-se que essas estruturas se apresentam mais abundantes e agrupadas nos “campos de pontuações primárias”. Aumento 325x (desenho tirado com auxílio de um espelho de projeção, em microscópio Leitz-Ortholux, ocular 6x e obj. imersão).

- C — As paredes celulares colorem-se de amarelo ou amarelo-arroxeadado ; os lúmens das células, na maioria dos casos vazios, às vezes apresentam-se com precipitados escuros (provenientes da ação dos reativos sobre resíduos de protoplasma), que se localizam com maior intensidade junto às regiões das paredes celulares providas de plasmodesmas.
- D — Os plasmodesmas colorem-se de azul escuro, de tonalidade sensivelmente semelhante àquela de que se revestem os precipitados encontrados no lúmen das células. Apresentam-se sob a forma de filamentos muito tênues, arqueados, agrupados de modo a lembrarem os meridianos de um globo (fig. 2 e 3), ou ainda, quando geniculados, assemelham-se aos filamentos do fuso acromático, assumindo, pois, a mesma forma típica que lhes tem

sido atribuída em outros tecidos por vários autores. Aliás, esta forma, sensivelmente semelhante à do fuso mitótico, vem favorecer a opinião de diversos pesquisadores a respeito da ontogenia dos plasmodesmas, segundo a qual estas conexões protoplasmáticas seriam remanescentes do fuso acromático. Os agregados de plasmodesmas apresentam-se mais nítidos, porque típicos, nos "campos de pontuações primárias", que são mais intensamente penetrados pelas conexões protoplasmáticas, e nessas regiões os filamentos medem de 6-7 micros de comprimento. Às vezes, a proximidade de diversos "campos de pontuações primárias", em uma só parede celular, dá a esta última uma aparência moniliforme e nos estrangulamentos adensam-se os plas-



FIGURA 3. — Fotomicrografia de algumas células endospermicas, com aumento aproximado de 1000x (Câmara Leica adaptada a microscópio Leitz-Ortholux).

modesmas. Os que não se situam em campos de pontuações primárias, são mais longos, medindo de 6,5 a 7,5 micros de comprimento (o comprimento deles parece ter relação com a largura da parede celular), porém perdem, em parte, a conformação típica; são menos arqueados, os mais internos nos grupos quasi retilíneos. O número de plasmodesmas varia bastante de célula para célula: certas paredes celulares são intensamente atravessadas de plasmodesmas, outras têm menor quantidade ou pelo menos evidenciam menor número. Igualmente, o número de filetes por agregado de conexões varia bastante: grupos com 4-6 filamentos, e, neste caso, bem abarrilhados, aparecem com maior frequência nos campos de pontuações primárias; agregados com número maior de filamentos também aparecem, e

nestas condições as conexões são menos arqueadas e não se aglutinam tão intensamente como no caso anterior.

Em resumo, os plasmodesmas observados no endosperma de café são muito semelhantes, em forma, número e disposição, àqueles vistos e descritos por Quisumbing (5), em *Diospyros kaki* L. (caquiseiro).

PLASMODESMATA IN ENDOSPERM CELLS OF *COFFEA ARABICA* L. VAR. *TYPICA* CRAMER

SUMMARY

Following the technic utilized by Crafts in his work on the storage tissue of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.), it was possible to demonstrate the occurrence of plasmodesmata in cell walls of the endosperm tissue of *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer. These plasmodesmata appear more abundantly in the "primary pit fields" of the cell walls, and were found to be very different from those which occur in the potato tuber cells; their shape, size, and number are very similar to the plasmodesmata reported for the endosperm cells of *Diospyros kaki* L. by Quisumbing.

LITERATURA CITADA

1. CRAFTS, A. S. A technic for demonstrating plasmodesma. *Stain Tech.* 6:127-129. 1931.
2. FOSTER, A. S. *Practical plant anatomy*. 2.^a ed. New York, D. V. Nostrand Co. Inc., 1950. p. 15.
3. LIVINGSTON, L. G. The nature and distribution of plasmodesmata in the tobacco plant. *Amer. J. Bot.* 32:75-87. 1933.
4. MEEUSE, A. D. J. Plasmodesmata. *Bot. Rev.* 7:249-262. 1941.
5. QUISUMBING, E. Continuity of protoplasm in endosperm cells of *Diospyros*. *Bot. Gaz.* 80:439-449. 1952.