

DETERMINAÇÃO AUTORADIOGRÁFICA QUALITATIVA DO  $p^{32}$   
ABSORVIDO PELAS RAÍZES DO TOLETE DA CANA-  
-DE-AÇÚCAR (*Saccharum spp*)\*

Roberto A. Arevalo\*\*  
Eurípedes Malavolta\*\*\*  
Paulo N. Camargo\*\*\*

*RESUMO*

A presente pesquisa foi realizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, SP, Brasil, no período 1981-82, para verificar se o  $p^{32}$  absorvido pelas raízes do tolete da cana-de-açúcar se transloca para a gema germinante.

Toletes + 10-Kuijper, de uma gema, do cv. CB-41-76, foram germinados em posição vertical, em bandejas contendo água destilada ao nível superior do nó. A

---

\* Recebido para publicação em 02/04/84.

Parte da dissertação de Mestrado apresentada à E.S. A. "Luiz de Queiroz" pelo primeiro autor.  
Com apoio financeiro da FAPESP.

\*\* Engenheiro Agrônomo.

\*\*\* Departamento de Química, E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba, SP.

estavam com mais de 150 cm de altura, adicionaram o  $P^{32}$  à solução nutritiva, para que fosse absorvido pelo sistema radicular normal, contando a radioatividade na folha do nó número 6, a partir do ápice. Não estudaram a absorção do  $P^{32}$  pelas raízes adventícias do tolete.

RESNIK et alii (1976) estudaram a absorção do  $P^{32}$  por raízes do tolete, no cv. NCo 310 e sua translocação em toletes de 4 nós. O  $P^{32}$  absorvido pelas raízes, durante 48 horas, translocou-se para os setores radiais e longitudinais do colmo. Acumulou-se em maior concentração nos nós do que nos internódios e no internódio superior do que no inferior. Não observaram a sua translocação para a gema.

Este trabalho visa a determinar, autorradiograficamente, a translocação do  $P^{32}$  absorvido pelas raízes do tolete, e sua translocação para a gema germinante.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, SP, Brasil, no período de 1981-82.

Do cv. CB-41-76, foram utilizados toletes unigemas + 10-Kuijper, os quais foram tratados, durante 10 minutos com o fungicida benomil<sup>o</sup> a 50%, na dose de 30 g/100 litros de água, para evitar contaminações por *Fusarium* sp.

Os toletes foram postos a germinar, em posição vertical, em bandejas contendo água destilada ao nível superior do nó. A água era arejada artificialmente e as bandejas, com os toletes, recobertas com lençóis de plástico negro, para manutenção da umidade atmosférica.

Cada dois dias, a água das bandejas era substituída, as bandejas desinfetadas com HCl a 1% e os toletes lavados com água destilada, para evitar a formação de colônias gelatinosas de bactérias.

Para estimular o crescimento das raízes, foi adicionado à água destilada,  $\text{CaSO}_4$  a 2 ppm.

Foram realizados dois experimentos, em blocos totalmente casualizados, com 4 repetições. O experimento 1 (E-1) foi executado com duas raízes de 7, 14 e 21 dias de idade, a partir do plantio e o experimento 2 (E-2) com raízes de 25 dias de idade, em toletes de 1, 2, 4 e 8 raízes. Em ambos os experimentos, as raízes excedentes foram cortadas com tesoura.

Em ambos os experimentos para a absorção do  $\text{P}^{32}$  da tolete foi colocado, individualmente, em posição vertical, em um vaso de 2 litros de capacidade, contendo vermiculita umidecida com água destilada. Ao lado do tolete foi colocado um pequeno frasco contendo 50 ml da solução de  $\text{P}^{32}$ , na qual foram mergulhadas as raízes, para absorver, durante 24 horas. Para manter a umidade atmosférica, cada vaso foi recoberto com um saco transparente de polietileno.

A solução de  $\text{P}^{32}$  foi preparada diluindo 2 ml da solução estoque, de 2mCi, de  $\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$  em 498 ml da solução de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , a  $10^{-4}\text{M}$ .

Após 24 horas de absorção de  $\text{P}^{32}$ , os toletes foram lavados em água de torneira, para retirar o  $\text{P}^{32}$  da superfície das raízes e, logo, enxugados com papel absorventes, colocados em sacos de papel e conservados em refrigerador, para o preparo das autorradiografias.

As autorradiografias foram preparadas somente de uma repetição de cada tratamento respectivo, uma vez verificado que existia suficiente radioatividade nas repetições restantes. O preparo das autorradiografias obe-

deceu à seguinte marcha: cada tolete foi retirado do refrigerador e separado nas seguintes parte:

- a) raízes - coladas com cola Tenaz, em papel sulfite e deixadas a secar por 24 horas, à temperatura ambiente, no laboratório;
- b) fatias do n<sup>o</sup> - (100  $\mu$ m), com gema germinante, secadas em papel absorvente (toalhas sanitárias), durante 2 dias e coladas com cola Tenaz em papel sulfite;
- c) fatias dos internódios superior e inferior - (100  $\mu$ m), também processadas com as fatias do n<sup>o</sup>.

As folhas de papel sulfite, contendo as peças coladas, foram postas, individualmente, em contato com filmes de raios-X (RX-médico) de processamento rápido, entre lâminas de papelão grosso, e empilhados entre duas placas de madeira, tendo sido o conjunto embrulhado em várias folhas de papel de jornal e firmemente amarrado em várias voltas de barbante. Sobre cada um desses embrulhos, foi colocada uma placa de madeira, sobre a qual se colocou um bloco de ferro de 5 kg.

Todas essas operações foram realizadas em câmara escura, com luz vermelha. O material permaneceu na câmara escura durante os seguintes lapsos de tempo: raízes, 6 horas; gema, 48 horas; toletes completos, 240 horas. Após esses períodos, foram retirados os filmes, a luz vermelha, e colocados em envelopes negros, bem fechados, para evitar a entrada de luz, e levados para revelador automático (revela em 3 minutos).

## RESULTADOS

A seguir são apresentados os resultados autorradig gráficos dos dois experimentos.

## Experimento 1: raízes de 7, 14 e 21 dias de idade

### Raízes

As autorradiografias das raízes mostraram alta intensidade de radioatividade. Com 6 horas de exposição obtiveram-se imagens de resolução aceitável, embora com radioatividade excessiva, que mascarou os corpos das raízes (Figura 1).

A intensidade da radioatividade nas raízes aumentou com a idade das mesmas.

### Gema

Somente com 48 horas de exposição se conseguiram autorradiografias de resolução aceitável para as gemas.

A imagem da gema germinante, com 7 dias de idade, foi apenas perceptível (Figura 2A). A imagem da gema germinante, com 14 dias de idade mostrou atividade radioativa mais intensa que a anterior (Figura 2B). A imagem da gema germinante de 21 dias de idade mostrou maior radioatividade que na de 14 dias de idade (Figura 2C).

### Região nodal

Estas autorradiografias foram executadas sem as gemas, que haviam sido extraídas para outras autorradiografias. Assim, a radioatividade apresentada no local da gema indica o afluxo do  $P^{32}$  para o local da inserção da gema, para onde confluem os traços gemares (AREVALO, 1983).



Figura 1. Autorradiografias de pares de raízes, com 6 horas de contacto com o filme: A) raízes de 7 dias; B) raízes de 14 dias; C) raízes de 21 dias (Original de R.A. AREVALO, 1981).

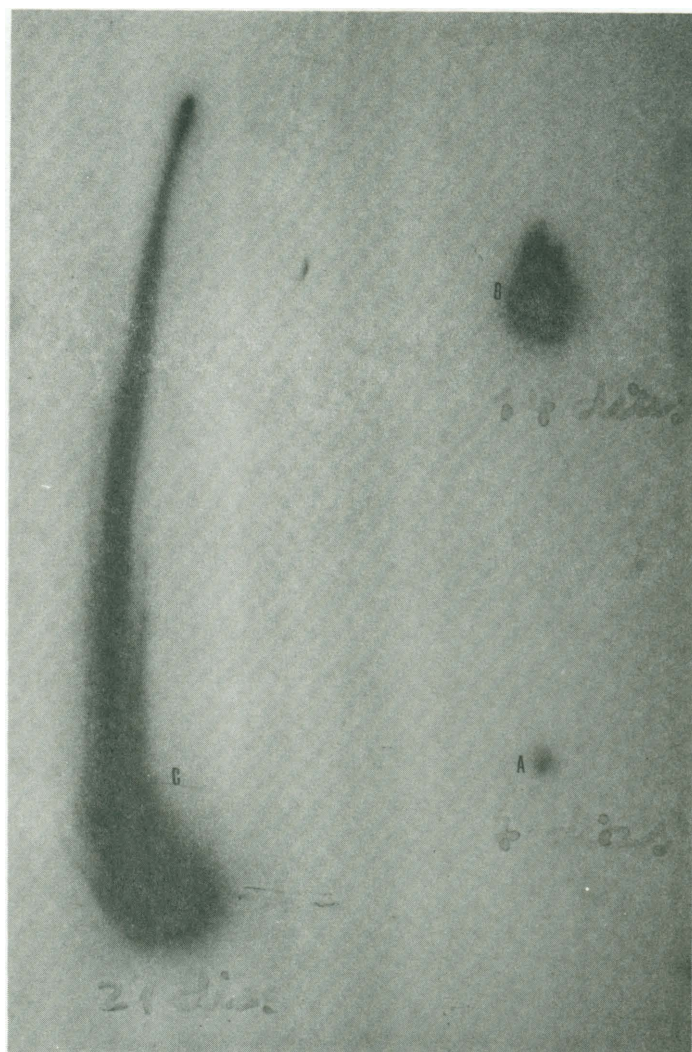


Figura 2. Autorradiografias da gema germinante, após 48 horas de contacto com o filme: A) 7 dias de germinação; B) 14 dias; C) 21 dias (Original de R.A. AREVALO, 1981).

Com raízes de 7 dias de idade, a intensidade da radioatividade foi insignificante no local da gema (Figura 3A, G). Com raízes de 14 dias de idade, a radioatividade foi tão intensa, no local da gema, que se irradiou para uma grande área abrangendo quase toda a região nodal e também para fora do colmo (Figura 3B, G). No sistema periférico, as anastomoses plagiotrópicas foram bem evidenciadas pela radioatividade (Figura 3B, SP).

Com raízes de 21 dias de idade, a intensidade da radioatividade foi aparentemente idêntica à de 14 dias (Figura 3C).

### Internódios

Com raízes de 7 dias de idade, a radioatividade se distribuiu nos sistemas central e periférico, com intensidade relativamente baixas, porém maior no internódio inferior (Figura 3A). Com raízes de 14 dias, a radioatividade se distribuiu com maior intensidade no internódio superior do que no inferior, abrangendo tanto o sistema central como o periférico, sendo maior neste sistema (Figura 3B). Com raízes de 21 dias, muito pouca radioatividade foi distribuída nos internódios, sendo nitidamente evidente no sistema periférico e aparentemente, um pouco maior no internódio inferior (Figura 3C).

**Experimento 2: Autorradiografias da gema e da região nodal anexa, absorção por raízes de 25 dias de idade**

### Toletes com uma raiz

A autorradiografia de gema germinante foi muito débil, revelando, no entanto, que o  $P^{32}$  se translocou até





Figura 3. Autorradiografias de fatias de toletes: A) absorção de  $P^{32}$  por raízes de 7 dias de idade. Radioatividade insignificante na área da gema (G), distribuindo-se nos feixes periféricos e centrais dos Internódios.

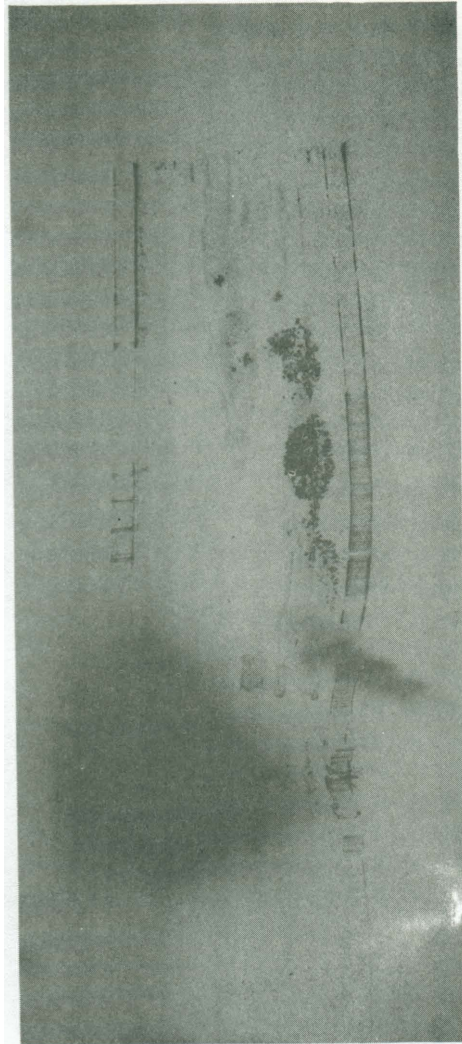


Figura 3. B) Com raízes de 14 dias de idade, radioatividade intensa no local da gema (G) que se irradiou foram dela. Distribuindo-se nitidamente nos feixes periféricos.

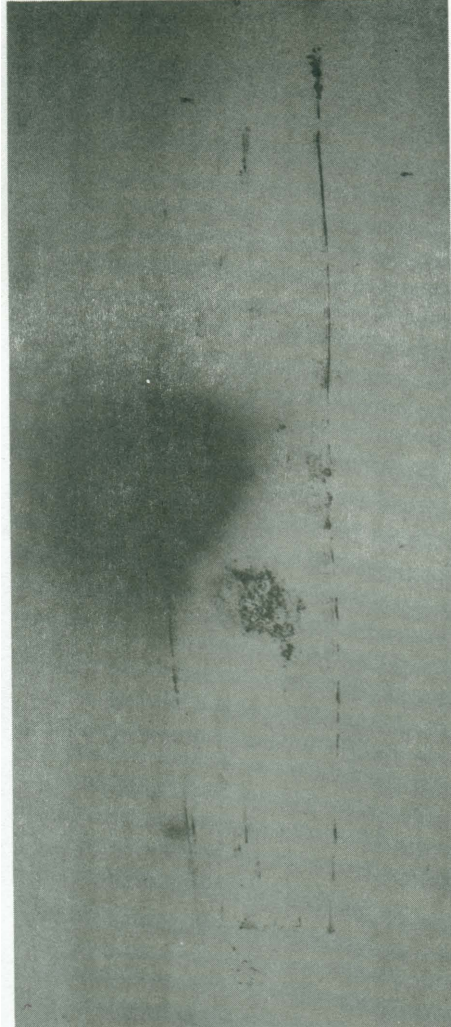


Figura 3. C) Com raízes de 21 dias de idade, similar à anterior, distribuindo-se no sistema periférico superior e inferior do nã (Original da Figura 3 A, B e C de R.A. AREVALO, 1981)

ela (Figura 4A). Na região nodal, a radioatividade foi insignificante, não tendo impressionado o filme. Nas regiões supero e inferonodal, a radioatividade também não impressionou o filme.

### Toletes com duas raízes

A gema mostrou maior radioatividade do que com uma raiz. A região nodal anexa à gema mostrou leve radioatividade (Figura 4B). Nas regiões supero e inferonodal, a radioatividade foi tão débil que não impressionou o filme.

### Toletes com quatro raízes

A autorradiografia da gema revelou radioatividade de intensidade aparentemente similar à dos toletes com duas raízes. Na região nodal, a radioatividade foi aparentemente pouco mais intensa que no tolete com duas raízes (Figura 4C). Nas regiões supero e inferonodal as radioatividades foram tão débeis que não impressionou o filme.

### Toletes com oito raízes

A autorradiografia da gema revelou intensa radioatividade, e a da região nodal foi tão intensa como a da gema (Figura 4D) e mais intensa do que nos toletes de quatro raízes. Nas regiões supero e inferonodais, a radioatividade não chegou a impressionar o filme.

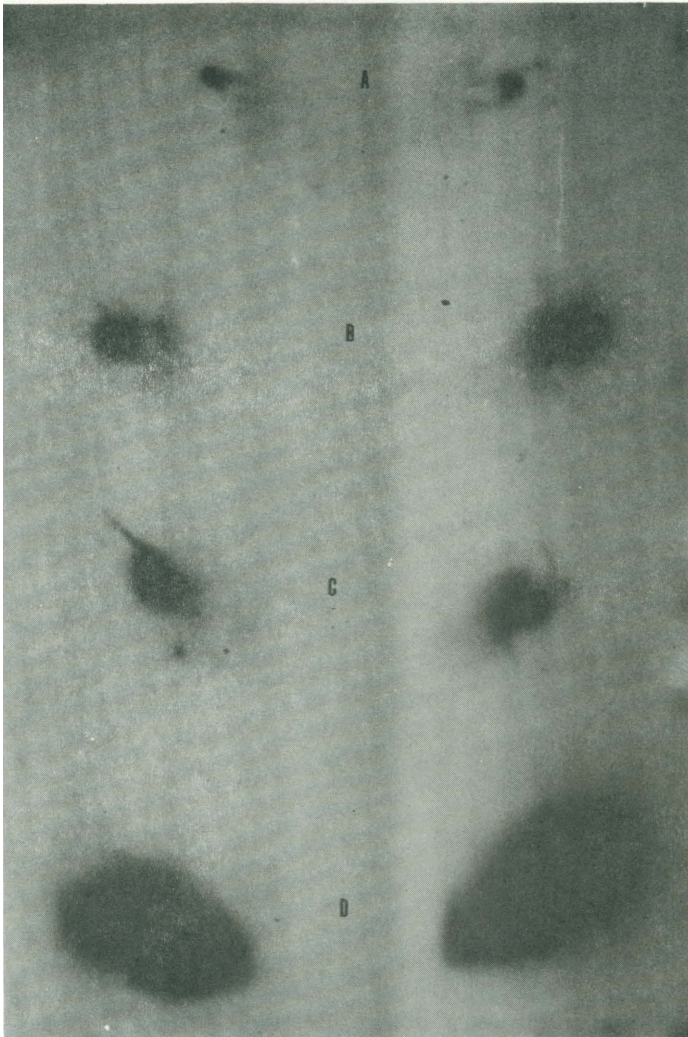


Figura 4. Autorradiografias de gemas e regiões nodais de 25 dias de germinação: A) 1 raiz; B) 2 raízes; C) 4 raízes; D) 8 raízes. Cada linha vertical separa a gema da sua região nodal respectiva (vide indicação esquemática da Figura) (Original de R.A. AREVALO, 1981).

## DISCUSSÃO

O método autorradiográfico tem sido usado qualitativamente, nesta pesquisa. Os toletes absorveram radicalmente, o  $P^{32}$ , por um período de 24 horas. Este rádioisótopo distribuiu-se pelas diversas partes do tolete, acumulando-se mais em umas do que em outras. Assim quando o acúmulo do  $P^{32}$ , em certas partes, foi grande, chegou a produzir radioatividade excessiva, que mascarou a imagem dessas partes, como ocorreu nas raízes (Figura 1) e nas gemas (Figura 2). Na Figura 3B, C, em que não existe a gema, que fora extraída, para outras radiografias, a radioatividade excessiva mascarou de tal maneira o local da gema, que nem dá para se saber se a gema está presente ou ausente, nesse local. O mascaramento foi total. O mesmo ocorreu no caso da Figura 4, em que a gema está presente.

Por outro lado, a absorção do  $P^{32}$  pelo mesmo período de 24 horas, mostrou radioatividade deficiente em outras partes do tolete, tais como os internódios e os sistemas fibro-vasculares.

Estas observações indicam que tanto o tempo de absorção do  $P^{32}$  como o tempo de exposição do filme ao material radioativo foram excessivos para as autorradiografias de gemas e de raízes, mas foram deficientes para as de internódios e dos sistemas fibrovasculares.

Entretanto, para o caso desta pesquisa, as falhas apontadas não têm nenhum efeito negativo, de vez que ela visava a determinar a translocação do  $P^{32}$  das raízes do tolete para a gema germinante, pois os resultados mostraram que esse fato ocorreu.

A translocação do  $P^{32}$  das raízes para a gema aumentou com a idade e com o número de raízes, o que era de se esperar.

Naturalmente, as raízes mais novas, ainda em crescimento absorveram  $P^{32}$ , mas este radíolótópo não se transloca intensamente para a gema, por duas razões: primeiro, porque estando elas em desenvolvimento, seus tecidos de condução (xilema e floema) ainda não estão em completo funcionamento e, segundo, porque o  $P^{32}$  absorvido é retido nessas raízes, em grande parte por incorporação nos mecanismos da fosforilação, do metabolismo celular. Nas raízes mais velhas, a absorção e a translocação do  $P^{32}$  é maior, pois, além de elas apresentarem maior superfície de absorção, já possuem seu sistema de condução totalmente desenvolvido e funcional. Com todos os seus tecidos adultos, já não incorporam  $P^{32}$  em quantidades expressivas.

Na região nodal não foi possível determinar qualquer configuração da distribuição da radioatividade, porque a excessiva intensidade radioativa da área da gema mascarou praticamente toda a região.

Nos internódios, o  $P^{32}$  se distribuiu em concentrações de leve predominância no internódio inferior do que no superior, com raízes de 7 dias e de 21 dias, ao passo que com raízes de 14 dias, a sua concentração foi levemente maior no internódio superior. Este resultado é contraditório, provavelmente em virtude da baixa intensidade de radioatividade constatada nessa parte. Conseqüentemente, o estudo da distribuição do  $P^{32}$  nos internódios requer novas pesquisas, mesmo porque RESNIK et alii (1976) constataram que a radioatividade do  $P^{32}$  foi maior no internódio superior do que no inferior.

## CONCLUSÕES

O  $P^{32}$  absorvido pelas raízes do tolete translocou-se, dentro de 24 horas, para a gema germinante.

A quantidade do  $P^{32}$  translocado para a gema aumentou com o número e com a idade das raízes.

Para estudos autorradiográficos de raízes e de gemas, com o  $P^{32}$ , o tempo de 24 horas de absorção radicular parece excessivo. O mesmo se pode dizer do tempo de exposição do filme ao material radioativo.

#### SUMMARY

#### QUALITATIVE RADIOAUTOGRAPHIC DETERMINATION OF RADIOPHOSPHORUS TAKEN UP BY THE ROOTS OF GERMINATING SETTS OF SUGAR CANE

Germinating setts of sugar cane with different age and number of roots were placed in contact with a solution of phosphate labelled with  $P^{32}$ . After 24 hours the material was sliced and radioautographed.

It was found that all parts were radio active (roots, buds, nodes and internodes). Radioactivity increased with age and with the number of absorbing roots.

#### LITERATURA CITADA

AREVALO, R.A., 1983. Arquitetura da rede fibrovascular nodal do colmo da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). Piracicaba, ESALQ/USP, 98 p. (Dissertação de mestrado).



HARTT, C.E., KORTSCHAK, H.P., 1965. Radioactive isotopes in sugar cane physiology. ISSCT Proc. 10: 647-662.

RESNIK, M.; MARTINEZ, E.H.; PALOMAR, S.O.; ZEMAN, E., 1976. Absorción y translocación de fósforo en tallos defoliados de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). Turrialba 26: 174-178.