



A exposição ao sal e a idade das folhas influenciam a posição de folhas amarelas em ramos de *Ipomea pes-caprae* (Convolvulaceae)?

Diana Bertuol Garcia

RESUMO: Plantas possuem diversas estratégias para lidar com o estresse. Em ambientes salinos, como dunas costeiras, uma dessas estratégias é eliminar sal direcionando-o para folhas, que ficam amarelas e sofrem abscisão. Investiguei como a exposição ao sal e a idade das folhas influenciam a posição das folhas amarelas em *Ipomea pes-caprae*. Amostrei ramos que cresciam em direção ao mar (M) e paralelamente ao mar (P). Calculei a posição relativa das folhas amarelas de cada ramo em relação ao ápice. Ramos M e P possuíam folhas amarelas nas posições mais distantes do ápice, indicando que folhas mais velhas ficam amarelas mais frequentemente. Porém, nos ramos M, folhas amarelas estavam relativamente mais próximas do ápice do que nos ramos P, indicando que a salinidade também está relacionada à ocorrência dessas folhas. Portanto, a localização das folhas amarelas em *I. pes-caprae* resultou de um balanço entre idade da folha e exposição ao sal.

PALAVRAS-CHAVE: abscisão foliar, dunas, estresse, halófitas, salinidade.

INTRODUÇÃO

A exposição a alguns fatores ambientais pode aumentar os custos metabólicos da sobrevivência dos organismos (Kedy, 2007). Esses fatores são definidos como fatores de estresse, enquanto as respostas que esses fatores desencadeiam nos organismos são chamadas de respostas de estresse (Schulze et al., 2002). Em plantas, altas concentrações de sal podem atuar como fatores de estresse, pois dificultam a absorção de água e prejudicam diversas funções celulares (Munns & Tester, 2008).

Diferentes estratégias que diminuem os custos associados a altas concentrações de sal foram selecionadas em plantas halófitas ao longo da evolução (Carillo et al., 2011). Essas estratégias conferem à planta resistência ao sal e podem envolver exclusão, inclusão ou excreção do sal (Lüttge, 1997). A exclusão consiste em pouca absorção de sal pelas raízes, enquanto a inclusão envolve manter altas concentrações intracelulares de sal, por exemplo, através do transporte ativo de sal para dentro dos vacúolos, isolando-o dos locais onde ocorre a maioria das reações metabólicas (Lüttge, 1997). Por outro lado, a excreção do sal pode envolver direcionamento do sal absorvido pelas raízes para eliminação por outras estruturas da planta (Larcher, 1984).

As plantas halófitas eliminadoras de sal controlam ativamente o transporte de sal da raiz para as partes aéreas (Lüttge, 1997). Esse controle é iniciado nas células das raízes, que retêm pouco do sal que absorvem e o transportam para o xilema (Munns

& Tester, 2008). Ao longo da planta, o transporte do sal é dependente de um controle fino da quantidade de sal que canais transportadores de íons das células do parênquima absorvem do xilema (Carillo et al., 2011). Esse controle ocorre principalmente pela regulação da expressão gênica desses canais (Carillo et al., 2011) e é potencialmente custoso para as plantas. Uma possível estratégia que evitaria esses custos seria minimizar o movimento do sal ao longo da planta (Munns & Tester, 2008).

As dunas costeiras ocorrem na maioria das praias arenosas do mundo e sofrem continuamente ação de borrifos marinhos, gerando um gradiente de maior exposição ao sal com a maior proximidade ao mar (McLachlan & Brown, 2006). A vegetação que habita as dunas é composta por espécies halófitas, cujas estratégias para superar os efeitos da salinidade podem envolver o acúmulo de sal em folhas que sofrerão abscisão (Cordazzo, 1998). Nas dunas do litoral sul do Brasil, é comum encontrar a espécie herbácea reptante *Ipomea pes-caprae* (Convolvulaceae), que possui ramos que crescem horizontalmente, lançando novos ramos a partir das gemas laterais (Couto & Cordeiro, 2005; Melo et al., 2005). As raízes se desenvolvem a partir dos nós (Melo et al., 2005) e, portanto, estão presentes ao longo de todo o ramo. As folhas de *I. pes-caprae* são verde-escuras, mas ocorrem algumas folhas amarelas isoladas em manchas dessa espécie (Figura 1).



Figura 1. Folhas amarelas em mancha da espécie herbácea de dunas *Ipomea pes-caprae*. (a) Mancha da espécie *I. pes-caprae* nas dunas da Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Barra do Una, com folhas amarelas isoladas umas das outras. (b) Detalhe de uma folha amarela de *I. pes-caprae*.

As folhas amarelas de *I. pes-caprae* poderiam ser resultado do envelhecimento regular de folhas. Nesse caso, as folhas que estão próximas umas das outras nos ramos estariam em condições semelhantes de tempo de vida, o que resultaria em um padrão de folhas amarelas próximas umas das outras nas manchas de *I. pes-caprae*. No entanto, em condições naturais, as folhas amarelas ocorrem isoladas, sem folhas em decomposição ou cicatrizes de folhas mortas nos arredores (Figura 1). Isso sugere que outros processos determinam a distribuição de folhas amarelas em *I. pes-caprae*. Sabendo que em plantas não halófitas, folhas mais velhas tendem a amarelar quando as plantas são expostas a altas concentrações de sal (Carillo et al., 2011) e que as espécies que habitam dunas podem direcionar sal para folhas que sofrerão abscisão foliar como estratégia para eliminar o sal (Cordazzo, 1998), é razoável propor que as folhas amarelas de *I. pes-caprae* são resultado de tal estratégia.

O direcionamento de sal para uma folha poderia ser influenciado pela exposição ao sal, mas também pela idade da folha, uma vez que, em plantas herbáceas, a capacidade fotossintética das folhas maduras declina relativamente rápido com a idade (Kikuzawa, 2003 apud Kikuzawa & Lechowicz, 2011), possivelmente tornando menos prejudicial perder folhas mais velhas. Assim, o objetivo do meu estudo foi investigar como a exposição ao sal e a idade das folhas influenciam quais folhas ficam amarelas em *I. pes-caprae*. Para elaborar as hipóteses, pressupus que todas as raízes de *I. pes-caprae* são igualmente capazes de absorver sal. Assim, dado que o transporte de sal pode ser custoso para a planta, elaborei uma hipótese de que as folhas mais expostas ao sal devem ter maior probabilidade de ficarem amarelas. Por outro lado, dado que o custo de perder folhas mais velhas pode ser menor, elaborei uma segunda hipótese de que as folhas mais velhas da planta devem ter maior

probabilidade de ficarem amarelas.

MATERIAL & MÉTODOS

COLETA DE DADOS

Realizei o estudo na Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Barra do Una (24°32'S; 47°15'O), no litoral sul do estado de São Paulo. Após caminhar por toda a extensão da praia da Barra do Una do Norte, escolhi uma faixa paralela ao mar de aproximadamente 130 x 20 m, onde os ramos de *I. pes-caprae* se encontravam pouco emaranhados entre si, facilitando sua individualização. Nessa faixa, amostréi todos os ramos de *I. pes-caprae* que cresciam em direção ao mar, os quais denominei de ramos M. Em outra faixa paralela ao mar, com aproximadamente 1.500 x 20 m, amostréi todos os ramos de *I. pes-caprae* que cresciam paralelos ao mar, os quais denominei de ramos P (Figura 2a). A área de amostragem para os ramos P foi maior que a dos ramos M, pois os ramos P são mais raros. O critério para a escolha da área para os ramos P foi a faixa onde encontrei a maior quantidade desses ramos. Vale destacar, porém, que a água do mar na maré alta alcançava ambas as faixas amostradas. Excluí os ramos que mudavam de direção, estavam quebrados em algum ponto, não apresentavam folhas amarelas ou cujos ápices não consegui encontrar. Acompanhei cada ramo a partir do ápice, onde estavam as folhas mais novas, em direção à base até onde foi possível. Atribuí números de posições às folhas de cada ramo a partir do ápice, aumentando em direção à base. Registrei a posição em que uma ou mais folhas amarelas ocorreram em todos os ramos (Figura 2b). Quando ramos laterais cresciam a partir das gemas laterais, considerei apenas a folha do ramo principal em cuja axila estava o ramo lateral.

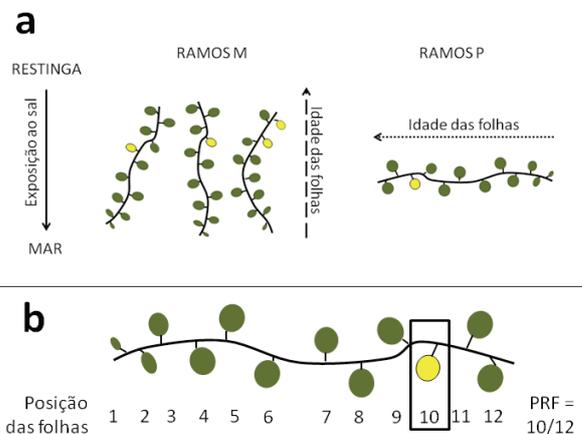


Figura 2. Esquema da amostragem dos ramos de *Ipomea pes-caprae*. (a) Tipos de ramos amostrados e gradientes de exposição ao sal e idade. À esquerda, o gradiente de exposição ao sal entre a restinga e o mar está representado pela seta contínua. No

centro, estão representados os ramos que cresciam em direção ao mar (ramos M) e à direita, os ramos que cresciam paralelos ao mar (ramos P). A seta tracejada indica o gradiente de idade das folhas dos ramos M e a seta pontilhada, dos ramos P. (b) Esquema de um ramo de *I. pes-caprae* com as posições atribuídas às folhas. O retângulo indica a posição da folha amarela. Para o cálculo da posição relativa da folha amarela (PRF), dividi a posição da folha (posição 10 no esquema) pelo número total de folhas (12 folhas no esquema).

Dado que o número de folhas por ramo é variável em *Ipomea pes-caprae*, calculei um índice da posição relativa da folha amarela (PRF) para cada ramo. Para o cálculo da PRF, dividi a posição da folha amarela pelo número total de folhas no ramo (Figura 2b). Em ramos com mais de uma folha amarela, obtive a mediana das posições das folhas amarelas para cada ramo e dividi essa mediana pelo número total de folhas do ramo. A PRF, então, varia entre 0 (mais próxima ao ápice) e 1 (mais distante do ápice). Nos ramos M, os valores mais próximos a 0 também representam maior exposição ao sal, pois o ápice do ramo fica mais próximo ao mar. Nos ramos P, a exposição ao sal é igual para todos os valores de PRF.

ANÁLISE DOS DADOS

Posição das folhas em ramos M e P

Primeiramente, realizei testes para investigar em qual posição as folhas amarelas se encontravam nos ramos M e P. Para cada tipo de ramo calculei a mediana dos valores de PRF dos ramos e obtive um valor único de PRF que representa a tendência central das posições das folhas amarelas nesses ramos. Minha estatística de interesse foi a mediana dos valores de PRF separadamente para ramos M e para ramos P. Para os ramos M, as folhas novas se encontram mais próximas ao mar, onde a exposição ao sal é maior, e, portanto, a previsão da hipótese da exposição ao sal é de valores de PRF mais baixos que o esperado ao acaso, enquanto a previsão da hipótese da idade das folhas é de valores de PRF mais altos que o esperado ao acaso. Para os ramos P, as folhas se encontram igualmente expostas ao sal e, portanto, a previsão da hipótese da exposição ao sal é de ausência de padrão nos valores de PRF, enquanto a previsão da hipótese da idade das folhas é de valores de PRF mais altos que o esperado ao acaso. Para as análises estatísticas, permutei 10.000 vezes a posição das folhas amarelas em cada ramo, sob a hipótese nula de que a probabilidade de ocorrência de folhas amarelas é a mesma em cada posição da folha. Recalculei a minha estatística de interesse para cada permutação e verifiquei a probabilidade com que o valor da estatística de interesse observado nos meus dados poderia ocorrer ao acaso. Para os ramos M,

realizei um teste bicaudal, pois minhas hipóteses mostram previsões tanto de valores altos quanto baixos. Para os ramos P realizei um teste unicaudal, pois apenas a hipótese da idade das folhas previa valores diferentes do acaso. Em ambos os testes, considerei como significativos valores de p menores que 0,05.

Comparações entre os ramos M e P

Realizei também um teste em que comparei as posições das folhas amarelas entre os dois tipos de ramos. A estatística de interesse nesse teste foi a diferença da mediana dos valores de PRF dos ramos P à mediana dos ramos M. A previsão da hipótese da exposição ao sal é que a mediana dos valores de PRF seja maior em ramos P do que em ramos M (valores positivos), enquanto a previsão da hipótese da idade das folhas é que não haja diferença entre os dois tipos de ramos (valores próximos a 0). As análises estatísticas desse teste foram realizadas igualmente ao teste unicaudal anterior, mas sob a hipótese nula de que a distribuição dos valores entre os dois tipos de ramos é igual. Todas as análises estatísticas foram realizadas no ambiente de programação R 3.1.3 (R Development Core Team, 2015).

RESULTADOS

Amostrei 56 ramos de *I. pes-caprae*, dos quais 38 eram ramos M e 18 eram ramos P. Nos ramos M, o número de folhas amarelas variou de 1 a 4 e nos ramos P esse número variou de 1 a 3, ambos com mediana igual a 1. Os valores de PRF de cada ramo variaram de 0,20 a 1 nos ramos M e de 0,37 a 0,96 nos ramos P.

Para os dois tipos de ramos, as folhas se encontraram mais próximas da base do ramo do que ao acaso (ramos M: $p = 0,013$; ramos P: $p < 0,001$; Figura 3). As folhas amarelas estavam mais próximas da base nos ramos P do que nos ramos M ($p = 0,004$) e a variação nos valores de PRF por ramo foi maior nos ramos M (Figura 3).

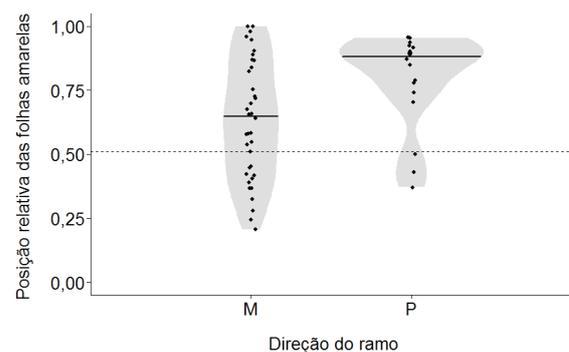


Figura 3. Posição relativa das folhas amarelas de *Ipomea pes-caprae* em ramos que crescem em direção ao mar (M) e ramos que crescem paralelos ao mar (P). A posição relativa das folhas

amarelas (PRF) varia de 0 (ápice) a 1 (base do ramo). Os pontos representam a posição mediana das folhas para cada ramo. As linhas contínuas são as medianas das posições para cada tipo de ramo e a linha tracejada é a mediana esperada ao acaso. A largura das áreas sombreadas é proporcional à densidade de pontos na região.

DISCUSSÃO

Neste estudo, investiguei como a exposição ao sal e a idade das folhas influenciam a posição das folhas amarelas em *I. pes-caprae*. Encontrei que folhas mais velhas ficam amarelas mais frequentemente, indicando que a idade da folha influencia qual folha fica amarela. No entanto, as folhas amarelas estiveram relativamente mais próximas do ápice quando o ramo crescia em direção ao mar, sugerindo um efeito da exposição ao sal na probabilidade das folhas ficarem amarelas. Então, assumindo que as folhas amarelas de *I. pes-caprae* são resultado de acúmulo de sal como estratégia para lidar com o estresse salino, essa espécie acumularia sal preferencialmente nas folhas mais velhas, mas dependendo da exposição ao sal.

Os resultados encontrados poderiam ser explicados por um balanço entre os custos associados à idade das folhas e ao transporte de sal. Em herbáceas, o declínio da capacidade fotossintética ocorre rapidamente com a idade da folha (Kikuzawa, 2003 apud Kikuzawa & Lechowicz, 2011) e, portanto, o custo da planta perder folhas mais velhas seria menor. Em relação ao transporte, quanto maior for a distância de transporte e a quantidade de sal absorvido, maior seria o custo energético da regulação de canais transportadores de íons ao longo da planta (Munss & Tester, 2008). Supondo que em *I. pes-caprae* todas as raízes têm igual capacidade de absorver sal, em ramos P, todo o ramo estaria absorvendo a mesma quantidade de sal. Nesses ramos, o custo de perder folhas jovens determinaria o direcionamento de sal para as folhas mais velhas. Já nos ramos M, a posição foliar onde os custos associados à idade e ao transporte de sal se equilibram seria o local em que ocorreriam as folhas amarelas. Em ramos a diferentes distâncias do mar, o custo do transporte seria diferente e a posição das folhas amarelas poderia variar. Como amostré ramos M a diferentes distâncias do mar, isso poderia explicar a maior variação observada nos valores de PRF para os ramos M do que para os ramos P. Para investigar se essa interação entre exposição ao sal e idade das folhas de fato ocorre na determinação da ocorrência das folhas amarelas de *I. pes-caprae*, estudos poderiam avaliar a distância em relação ao mar e a distância em relação ao ápice de folhas em ramos de *I. pes-caprae*, diferenciando entre folhas amarelas e normais de cada ramo.

Em *Hydrocotyle bonariensis*, outra espécie rep-tante que ocorre em dunas, há integração entre diferentes ramos em relação ao fornecimento de água e nitrogênio (Evans, 1991; Evans & Whitney, 1992), sugerindo que há comunicação entre folhas. Essa integração permite que os ramos em locais mais expostos ao sal, com maior dificuldade de absorção de água e nutrientes (Schulze et al., 2002), sobrevivam mesmo em condições estressantes. É possível que essa integração ocorra também em *I. pes-caprae*, apoiando a premissa de que a planta direciona sal para algumas folhas. Ramos de *I. pes-caprae* que crescem em direção ao mar estariam arcando com os custos energéticos do transporte de substâncias entre partes mais expostas e menos expostas ao sal e ainda perdendo folhas não tão velhas pelo acúmulo de sal. Isso poderia resultar em um maior custo energético total para esses ramos quando comparados aos que crescem paralelos ao mar. Como resultado, ramos que crescem em direção ao mar poderiam apresentar taxas de crescimento menores. Estudos futuros que acompanhem ao longo do tempo o crescimento dos dois tipos de ramos poderiam ajudar a elucidar se isso realmente ocorre.

Concluo que um balanço entre a idade das folhas e a exposição ao sal influencia as posições em que ocorrem as folhas de *I. pes-caprae*. Ramos que crescem em diferentes direções apresentariam um balanço entre idade das folhas e exposição ao sal diferentes, o que poderia determinar diferentes padrões de crescimento. Estudos que acompanhem o crescimento dos ramos em longo prazo, assim como o padrão temporal de surgimento de folhas amarelas, poderiam ajudar a elucidar como a abscisão das folhas está relacionada com o crescimento dos ramos.

AGRADECIMENTOS

Ao Glauco, à Adriana, ao Paulo Inácio e ao Gustavo (Billy) por toda a ajuda para pensar e estruturar o trabalho e por toda a animação sobre o modelo de estudo que encontrei, ao Adrian pelos desenhos na areia e pela paciência de discutir o projeto comigo, ao Lucas (Pinguim) pela ajuda com o R e com a interpretação dos resultados e ao Bruno (Ben 10) pelo companheirismo na hora de escrever, ao Diog(r)o por toda a ajuda e disposição com tudo o tempo inteiro, ao José Pedro pelas dicas valiosas na revisão, à Adriana de novo por me acalmar com a identificação da espécie e ao Diog(r)o de novo por me acalmar sobre a minha coleta em campo e à Paula (Puh) e à Irina (Org) por me acalmarem sempre, em qualquer situação.

REFERÊNCIAS

- Carillo, P.; M.G. Annunziata; G. Pontecorvo; A. Fuggi & P. Woodrow. 2011. Salinity stress and salt tolerance, pp 21-38. Em: Abiotic stress in plants - mechanisms and adaptations (A. Shanker, ed.). InTech, Shangai.
- Cordazzo, C.V. 1998. Guia ilustrado da vegetação costeira no extremo sul do Brasil. Editora da FURG, Rio Grande.
- Couto, O.S. & R.M.S. Cordeiro. 2005. Manual de reconhecimento de espécies vegetais da restinga do estado de São Paulo. SMA, São Paulo.
- Evans, J.P. 1991. The effect of resource integration on fitness related traits in a clonal dune perennial, *Hydrocotyle bonariensis*. *Oecologia*, 89:265-276.
- Evans, J.P. & S. Whitney. 1992. Clonal integration across a salt gradient by a nonhalophyte, *Hydrocotyle bonariensis* (Apiaceae). *American Journal of Botany* 79:1344-1347.
- Kedy, P.A. 2007. Plants and vegetation. Origins, processes and consequences. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kikuzawa, K. & M.J. Lechowicz. 2011. Ecology of leaf longevity. Springer, Tokyo.
- Larcher, W. 1984. Ecofisiologia vegetal. Editora Pedagógica e Universitária Ltda., São Paulo.
- Lüttge, U. 1977. Physiological ecology of tropical plants. Springer, Heidelberg.
- McLachlan, A & A.C. Brown. 2006. The ecology of sandy shores. Academic Press, San Diego.
- Melo, M.M.R.F.; F. Barros; S.A.C. Chiea; M. Kirizawa; S.L. Jung-Mendaçolli & M.G.L. Wanderley. 2004. Flora fanerogâmica da Ilha do Cardoso, vol. 11. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Munns, R. & M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59:651-81
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Schülze, E.D.; E. Beck & K. Müller-Hohenstein. 2002. Plant ecology. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.