



ARTIGO | ARTICLE

Influência da remoção dos cotilédones no desenvolvimento inicial de plântulas de *Canavalia ensiformis* e *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae, Papilionoideae)

Effect of cotyledons removal on seedlings development of Canavalia ensiformis and Phaseolus vulgaris (Leguminosae, Papilionoideae)

Ana Mayumi Hayashi¹
Heloisa Malaguetta¹
Kayna Agostini¹

RESUMO

A família Leguminosae é uma das maiores entre as angiospermas e com grande importância econômica e ecológica, como os gêneros *Phaseolus* e *Canavalia*. Esta família apresenta germinação epígea, cujos cotilédones são responsáveis por fornecer substâncias de reserva e fotoassimilados, importantes para o desenvolvimento inicial do vegetal. O objetivo desse estudo foi verificar a influência da remoção dos cotilédones no desenvolvimento de plântulas de *Canavalia ensiformis* e *Phaseolus vulgaris*. Para tanto, foram analisadas sessenta plântulas de cada espécie, as quais foram mantidas com os cotilédones até o estabelecimento das primeiras folhas (*C. ensiformis* com 14 dias e *P. vulgaris* com 7 dias) e então, pareadas de acordo com o tamanho e identificadas como A e B. Destas, ocorreu a remoção dos cotilédones das plântulas denominadas como A enquanto que, plântulas B permaneceram com os mesmos por mais 7 dias. Ao final do experimento foram obtidos os pesos fresco e seco dos cotilédones e plântulas, os quais, posteriormente, foram analisados estatisticamente. Em ambas as espécies, plântulas que tiveram os cotilédones removidos apresentaram crescimento inferior em relação as que permaneceram um período maior com os mesmos, demonstrando o papel fundamental dos cotilédones no crescimento e desenvolvimento inicial das plantas.

Palavras-chave: *Canavalia ensiformis*. Cotilédones. Desenvolvimento inicial de plântulas. *Phaseolus vulgaris*.

¹ Universidade Metodista de Piracicaba, Faculdade de Ciências Exatas e da Natureza. Rod. do Açúcar, km 156, 13400-911, Piracicaba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: K. AGOSTINI. E-mail:<kaynaagostini@gmail.com>.

ABSTRACT

Leguminosae is one of the largest families among the angiosperms and with a great economic and ecological importance, such as Phaseolus and Canavalia. This family has epigeal germination, and the cotyledons provide reserves and photoassimilates, which are essential for the initial development of the plant. The aim of this study was to verify the effect of cotyledons removal on seedling development of Canavalia ensiformis and Phaseolus vulgaris. Therefore, it was analyzed 60 seedlings of each species, which were preserved with the cotyledons until the establishment of the first leaves and then the seedlings were paired according to size and identified as A and B. In seedlings A the cotyledons were removed and in seedlings B the cotyledons remained for more 7 days. At the end of the experiment, fresh and dry weights of cotyledons and seedlings were obtained and subsequently analyzed statistically. In both species, the seedlings that the cotyledons were removed developed less than in those that the cotyledons were remained for more seven days, suggesting the importance of the cotyledons in the initial development and growth of these species.

Key words: Canavalia ensiformis. Cotyledons. Initial seedling development. Phaseolus vulgaris.

INTRODUÇÃO

Durante a germinação e no decorrer do desenvolvimento inicial da planta, os nutrientes armazenados nos cotilédones são transportados às áreas responsáveis pelo crescimento, de modo que, gradativamente, vão diminuindo de tamanho, até que murcham e caem (García-Cebrián *et al.*, 2003). Imediatamente após a emergência, os cotilédones iniciam uma fase de alta taxa de expansão associada à produção de clorofila e à presença de estômatos funcionais que possibilitam a produção de fotoassimilados. A função fotossintética dos cotilédones, associada ao retardamento do aparecimento de folhas verdadeiras podem ser determinantes para o crescimento inicial e o estabelecimento das plântulas (Lovell & Moore, 1970; Amarante *et al.*, 1995).

O estágio de plântula é a fase mais vulnerável no ciclo de vida das plantas (Fenner & Thompson, 2005). Um número muito limitado de plântulas consegue se desenvolver, muitas vezes coortes inteiras de várias espécies morrem devido a fatores diferenciados como: doenças, competição, limitação de nutrientes e susceptibilidade a estresses abióticos (Fenner, 1987; Moles & Westoby, 2004; Fenner & Thompson, 2005).

Muitas vezes os cotilédones podem sofrer algum tipo de herbivoria no início do desenvolvimento da plântula e, segundo Moles & Westoby (2004), este processo ecológico está entre os principais fatores que influenciam o recrutamento de plântulas, afetando a demografia dos indivíduos. Assim se a distribuição de plântulas é afetada, isto pode influenciar na composição da comunidade vegetal, através de alterações, interações competitivas, intra e interespecíficas (Howe *et al.*, 2002; Asquith & Mejia-Chang, 2005; Beckage & Clark, 2005). Em alguns experimentos, quando os cotilédones são artificialmente removidos no início do desenvolvimento das plântulas, são observadas reduções significantes no crescimento e no potencial reprodutivo dos indivíduos em fase adulta, mas quando os cotilédones são removidos no final do desenvolvimento das plântulas não ocorre redução no crescimento e nem influência na fase de florescimento dos indivíduos, sugerindo que os indivíduos já apresentam capacidade fotossintética para suprir a perda dos cotilédones (Kennedy *et al.*, 2004; Hanley & May, 2006; Hanley & Fegan, 2007).

A família Leguminosae possui ampla distribuição geográfica, com cerca de 650 gêneros e aproximadamente 18 mil espécies, sendo uma das maiores famílias entre as angiospermas e uma das

principais do ponto de vista econômico (Souza & Lorenzi, 2005).

Atualmente compreende três subfamílias Papilionoidea, Mimosoideae e Caesalpinoideae (Lewis *et al.*, 2005). Dentre estas, a maior é Papilionoidea com 476 gêneros e aproximadamente 14 mil espécies com importância ecológica e econômica, como plantas utilizadas em setores alimentícios, medicinais, ornamentais, madeireiros, de produção de fibras e óleos, entre outros (Juchum, 2007).

Na subfamília Papilionoidea estão os gêneros *Canavalia* e *Phaseolus*, sendo o primeiro alvo de muitos estudos recentes, devido a sua capacidade de alelopatia com outras plantas, pois este gênero produz e libera substâncias químicas fitotóxicas, podendo ser uma alternativa para a produção de biodefensivos agrícolas (Souza Filho, 2002) e também com o grande potencial de fixação de nitrogênio. Já o gênero *Phaseolus* é o produto agrícola de maior importância econômico-social do Brasil e o mais conhecido dentre as leguminosas, principalmente no que se refere à alimentação, sendo o Brasil o maior produtor mundial de feijão (*Phaseolus*) (Abreu, 2005).

Leguminosae apresenta germinação epigeal, na qual o hipocótilo empurra para fora do solo os cotilédones que tem função de fornecer substâncias de reservas (carboidratos, proteínas e lipídeos), minerais, hormônios e fotoassimilados para o desenvolvimento e o estabelecimento da plântula, uma vez que estas são seres heterotróficos durante os primeiros estágios após a germinação.

O objetivo geral do trabalho foi verificar a influência da remoção dos cotilédones no desenvolvimento inicial de plântulas de *Canavalia ensiformis* e *Phaseolus vulgaris*, simulando um ataque por herbívoros. Os objetivos específicos foram: 1) verificar em cada espécie se existe diferença de peso dos cotilédones que permaneceram diferentes períodos na plântula; 2) verificar em cada espécie se existe diferença de peso das plântulas que permaneceram diferentes períodos com cotilédones; 3) verificar se existe diferença entre as duas espécies estudadas em relação à influência da remoção de cotilédones

no desenvolvimento de plântulas de *C. ensiformis* e *P. vulgaris*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biologia da Universidade Metodista de Piracicaba, no município de Piracicaba (SP), durante os meses de agosto e setembro de 2010. Foram utilizados 30 vasos plásticos (com capacidade de 750mL) contendo terra vegetal para *C. ensiformis* e 30 para *P. vulgaris*, e em cada um destes, foram semeadas quatro sementes das respectivas espécies, a fim de garantir a obtenção de pelo menos duas plântulas em cada vaso.

Após a emergência, as plântulas foram monitoradas e assim que as primeiras folhas se estabeleceram (*C. ensiformis* com 14 dias após a semeadura e *P. vulgaris* com 7 dias), realizou-se a escolha de 60 plântulas de cada espécie, as quais foram pareadas entre si de acordo com o tamanho (Figura 1). Estas foram identificadas como plântulas A e B, sendo A as primeiras plântulas das quais foram retirados os cotilédones, e B as que permaneceram por mais 7 dias com os mesmos. Após a identificação realizou-se a primeira extração dos cotilédones (plântulas A), os quais foram retirados com o auxílio de lâminas de aço e em seguida pesados em balança de precisão, a fim de se obter o peso de massa fresca. Após a pesagem, os mesmos foram colocados em sacos de papel e levados à estufa de secagem a 70°C até que atingissem peso constante, obtendo-se dessa forma o peso de massa seca.

Uma semana depois foram realizados os mesmos procedimentos para as plântulas B, e após a extração de seus cotilédones, todas as plântulas foram retiradas dos vasos, lavadas, secas, pesadas e em seguida colocadas em sacos de papel e levadas à estufa de secagem a 70°C, até que houvesse a estabilização do peso, obtendo-se o peso seco das mesmas.

As plântulas que apresentaram queda dos cotilédones ao longo do experimento foram desconsideradas.

O ensaio foi conduzido sob delineamento experimental casualizado. As médias foram comparadas pelo teste *t*, utilizando, para tanto, o programa estatístico Sistema para a Análise e Separação de Médias (SASM - Agri 2001) em experimentos agrícolas.

RESULTADOS

As plântulas de ambas as espécies (*C. ensiformis* e *P. vulgaris*) que permaneceram um período maior com os cotilédones (plântulas B) apresentaram melhor desenvolvimento em relação às plântulas que sofreram remoção dos mesmos (plântulas A) (Figuras 2, 3A e 3B). Plântulas A de *C. ensiformis* apresentaram em média peso seco menor ($0,217 \pm 0,047$) em relação às plântulas B ($0,540 \pm 0,114$). Em *P. vulgaris* essa diferença também ocorreu, plântulas A apresentaram em média peso seco menor ($0,113 \pm 0,019$) em relação às plântulas B ($0,185 \pm 0,023$). Os resultados para ambas as espécies foram significativamente diferentes (Tabela 1).

Quanto aos cotilédones, os que foram retirados ao final do experimento apresentaram peso seco menor do que os que haviam sido extraídos anteriormente (Figuras 3C e 3D), diferindo estes estatisticamente entre si (Tabela 1). Em *C. ensiformis* cotilédones das plântulas A apresentaram em média peso seco maior ($0,372 \pm 0,099$) em relação aos cotilédones retirados das plântulas B ($0,128 \pm 0,049$). Em *P. vulgaris* esta diferença também foi observada, sendo que cotilédones de plântulas A apresentaram em média peso seco maior ($0,104 \pm 0,025$) em relação às plântulas B ($0,022 \pm 0,005$).

Além das diferenças quantitativas em relação ao peso seco das plântulas e dos cotilédones, também foram observadas diferenças qualitativas em relação ao tamanho das plântulas da espécie *C. ensiformis* em relação a *P. vulgaris* (Figura 2).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo, podem ser comparados ao trabalho realizado por Amarante et al. (1995) com plântulas de abóbora, em que os

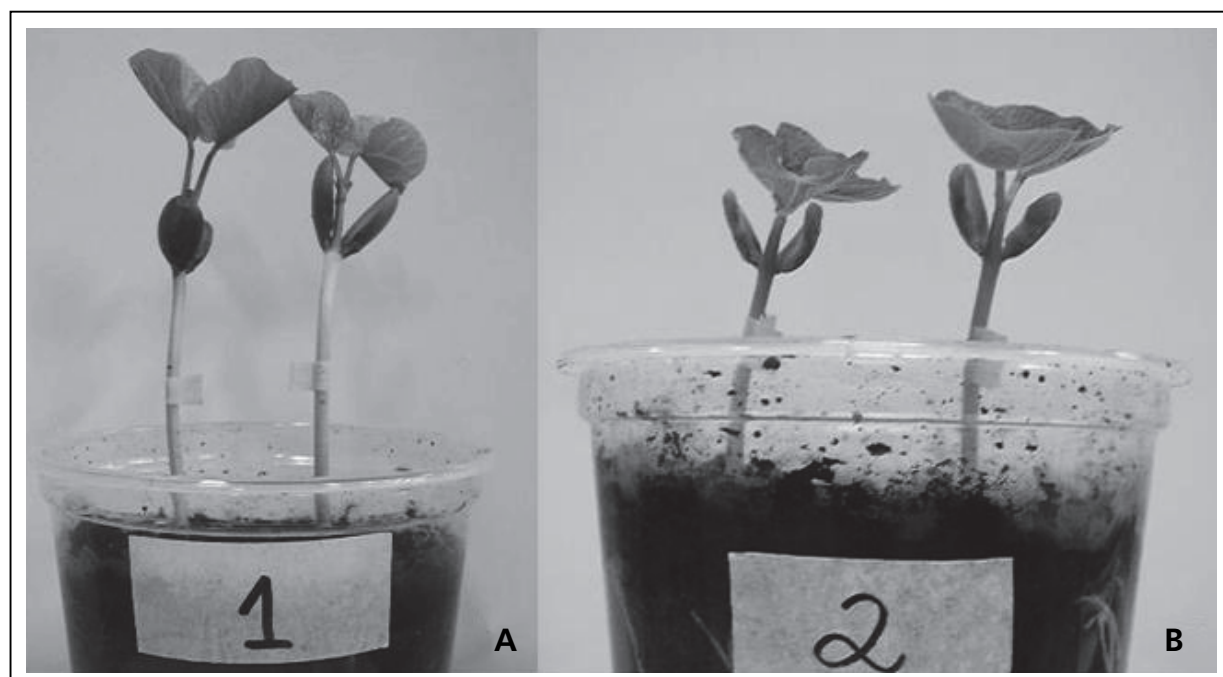


Figura 1. Plântulas pareadas utilizadas no experimento. (A) Plântulas de *C. ensiformis* com 14 dias após a semeadura. (B) Plântulas de *P. vulgaris* com 7 dias após a semeadura.

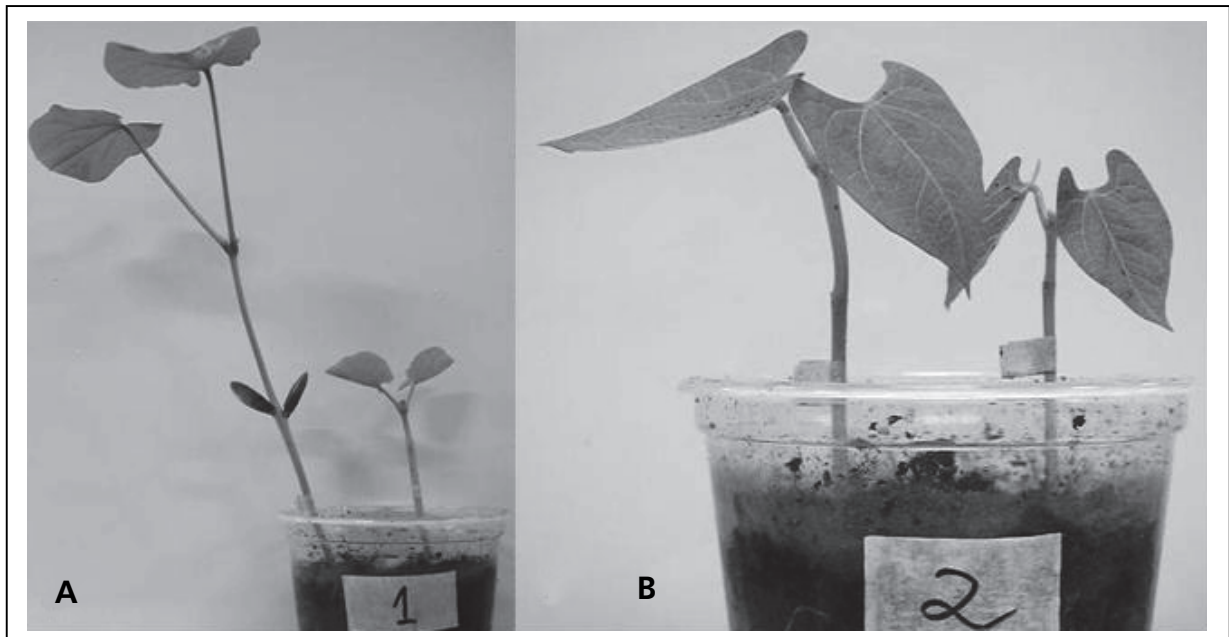


Figura 2. Nos vasos, plântulas mantidas com os cotilédones (à esquerda) e plântulas que sofreram remoção dos mesmos (à direita). (A) *C. ensiformis*. (B) *P. vulgaris*.

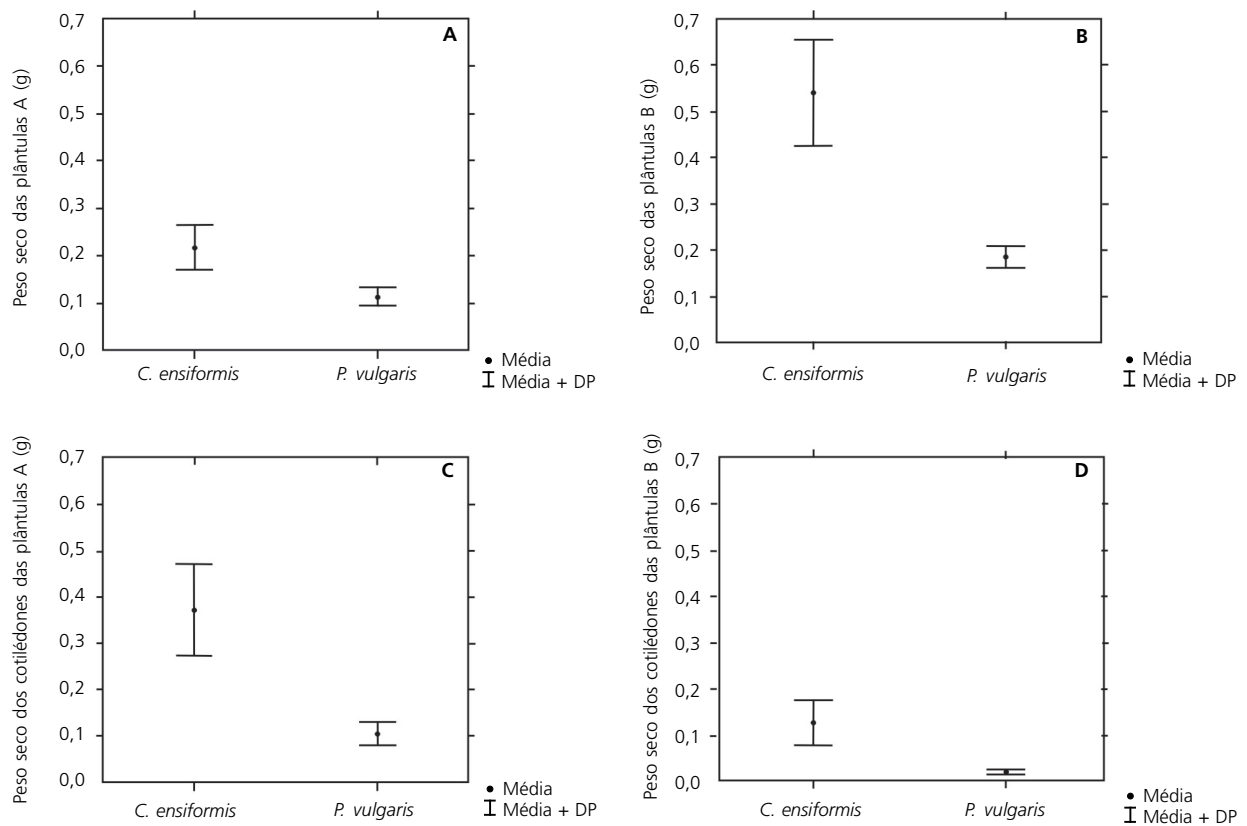


Tabela 1. Peso de matéria fresca e seca de plântulas e cotilédones de *C. ensiformis* e *P. vulgaris* referentes às plântulas que sofreram remoção dos cotilédones (plântulas A) e as que permaneceram com os mesmos (plântulas B). Piracicaba (SP), 2010.

	<i>Canavalia ensiformis</i>				<i>Phaseolus vulgaris</i>			
	Cotilédones (g)		Plântulas (g)		Cotilédones (g)		Plântulas (g)	
	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco
Plântulas A	1,839 ^{a*}	0,372 ^{a*}	2,567 ^b	0,217 ^b	0,450 ^a	0,104 ^a	1,488 ^b	0,113 ^b
Plântulas B	1,544 ^b	0,128 ^b	5,384 ^a	0,540 ^a	0,106 ^b	0,022 ^b	2,494 ^a	0,185 ^a

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste *t*.

autores observaram que a retirada dos cotilédones afetou significativamente a parte aérea dessas plântulas. Apesar de possuírem área foliar fotossintetizante, mas considerada reduzida, as plântulas de abóbora dependem dos metabólitos de reserva e dos fotoassimilados oferecidos pelos cotilédones. Segundo Boaro *et al.* (1998) isso já era de se esperar, uma vez que os cotilédones têm como finalidade transferir substâncias de reserva à plântula, de modo que gradativamente murcham e caem.

Existem outros exemplos de estudos *in vivo* e *in vitro* que afirmam a importância dos cotilédones no desenvolvimento inicial das plântulas. A remoção de cotilédones aos 14 dias do plantio, além de causar decréscimo na taxa de crescimento das plantas de *Vicia faba*, causou também diminuição no peso dos nódulos de *Rhizobium* em suas raízes, ao passo que a remoção dos cotilédones realizada aos 18 dias do plantio não afetou o desenvolvimento das plantas, mas aumentou o número e o peso dos nódulos (Silsbury & Silsbury, 1992) e a redução do acúmulo de matéria, em função da remoção de cotilédones, é acompanhada pela redução no conteúdo de carboidratos no eixo das plântulas de *Dalbergia miscolobium* (Sasaki & Felipe, 1992).

Na soja (*Glycine max*, Leguminosae) a contribuição dos cotilédones para o crescimento das plântulas é importante até o décimo primeiro dia após a emergência (Thomas & Costa, 1993). Estes autores afirmam ser indispensável a presença de pelo menos um dos cotilédones para que a plântula se desenvolva e consiga atingir bons rendimentos em grãos. Portanto, a remoção dos cotilédones precocemente pode afetar economicamente muitas culturas agrícolas.

Segundo Oliveira & Morais (1999) na maioria das espécies estudadas, a remoção de ambos os cotilédones nos três primeiros dias da emergência, diminuiu drasticamente a capacidade da plântula produzir brotações nas axilas cotiledonares e sua possibilidade de sobreviver se os cotilédones não apresentam altos teores de reservas como, por exemplo, em *V. unguiculata* e *P. vulgaris*.

Em estudos com abóbora híbrida cv. Tetsukabuto (*Cucurbita máxima* Duch. x *C. moschata* Duch.), Amarante *et al.* (1995) verificaram que o comprometimento dos cotilédones nas fases iniciais de desenvolvimento da plântula afeta diretamente o sistema radicular e, conseqüentemente, todos os outros processos de desenvolvimento da planta, principalmente em condições de estresse hídrico e nutricional, e ainda, de competição com plantas daninhas.

Hanley & Fegan (2007) sugeriram que danos causados nos cotilédones nas fases iniciais de desenvolvimento de plântulas têm maiores efeitos no crescimento da planta e no potencial reprodutivo na fase madura, pois verificaram que plântulas de *Plantago lanceolata* L. e *P. major* L. que tiveram seus cotilédones retirados após 7 e 14 dias de desenvolvimento, produziram menos inflorescências e plântulas de *Leontodon autumnalis* L., *L. hispidus* L. e *P. major* L., que tiveram seus cotilédones removidos com sete dias, tiveram o tempo de abertura das primeiras flores afetado.

A discrepante diferença de tamanho das plântulas de *C. ensiformis* em relação a *P. vulgaris* ao final do experimento pode ser explicada, segundo Bisognin *et al.* (2004), pelo fato de que em sementes

maiores, como é o caso de *C. ensiformis*, há uma quantidade maior, tanto de reserva como de área cotiledonar inicial, o que justificaria uma dependência, por um tempo maior, destas plantas aos mesmos, principalmente durante os primeiros estágios de desenvolvimento. Isto está de acordo com Brakke & Gardner (1987), no sentido de que a utilização da energia armazenada na semente, nos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, é mais rápida nas espécies cujos cotilédones são maiores. Cotilédones grandes possuem uma maior quantidade de compostos metabólicos que permitem o desenvolvimento de um sistema radicular vigoroso que ocupa volumes grandes e atinge solos profundos com maior umidade (Bacilieri *et al.*, 1993). A disponibilidade de recursos armazenados em cotilédones grandes pode aumentar as chances de estabelecimento de uma planta jovem em uma floresta (García-Cebrián *et al.*, 2003). Em floras tropicais, a maioria das espécies possuem sementes grandes, o que pode ser explicado pelos custos metabólicos elevados para conversão das reservas da semente no desenvolvimento da plântula em temperaturas elevadas.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no seguinte trabalho, pôde-se constatar que os cotilédones têm papel fundamental no crescimento inicial tanto de plântulas de *C. ensiformis* como de *P. vulgaris*, e que apesar de haver diferença visual significativa entre as espécies, ambas apresentaram diferença estatística das plântulas que sofreram ou não remoção dos cotilédones.

É importante salientar que este artigo apresenta relevância principalmente para a agricultura, pois se os agricultores evitarem a herbivoria dos cotilédones no início do desenvolvimento das plântulas, isso resultará na formação de indivíduos mais vigorosos, tanto vegetativa como reprodutivamente.

É interessante realizar estudos com plântulas de *C. ensiformis* e *P. vulgaris* com e sem remoção de cotilédones e que estas fossem acompanhadas até

o final da fase reprodutiva para verificar a importância destas estruturas no florescimento e na formação de novas sementes. Deste modo, seria possível avaliar a importância dos cotilédones no valor adaptativo destas espécies.

REFERÊNCIAS

- Abreu, A.F.B. (2005). *Cultivo do feijão da primeira e segunda safras na região sul de Minas Gerais*. Embrapa. Sistemas de produção, nº 6. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoPrimSegSafrasulMG/index.htm>>. (acesso: 29 set. 2010).
- Amarante, C.V.T.; Bisognin, D.A. & Canci, P.C. (1995). Contribuição das folhas cotiledonares para o crescimento inicial de plantas de abóbora híbrida cv. Tetsukabuto. *Ciência Rural*, 25(1):17-21.
- Asquith, N.M. & Mejia-Chang, M. (2005). Mammals, edge effects, and the loss of tropical forest diversity. *Ecology*, 86(2):379-90.
- Bacilieri, R.; Bouchet, M.A.; Bran, D.; Grandjanny M.; Maistre, M. & Perret, P., *et al.* (1993). Germination and regeneration mechanisms in Mediterranean degenerate forests. *Journal of Vegetation Science*, 4:241-6.
- Beckage, B. & Clark, J.S. (2005). Does predation contribute to tree diversity? *Oecologia*, 143(3):458-69.
- Bisognin, D.A.; Amarante, C.V.T.; Dellai, J. (2004). Contribuição das folhas cotiledonares para o crescimento e estabelecimento de plântulas de cucurbitáceas. *Horticultura Brasileira*, 22(2):309-13.
- Boaro, C.S.F.; Moraes, J.A.P.V.; Rodrigues, J.D.; Ono, E.O.; Pedra, J.F. & Curi, P.R. (1998). Magnésio, cálcio e potássio em sementes e cotilédones de feijoeiros e sua transferência para plantas jovens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33(3):263-8.
- Brakke, M.P. & Gardner, F.P. (1987). Juvenile growth in pigeonpea, soybean, and cowpea in relation to seed and seedling characteristics. *Crop Science*, 27:311-6.
- Fenner, M. (1987). Seedlings. *New Phytologist*, 106(1):35-47.
- Fenner, M. & Thompson, K. (2005). *The ecology of seeds*. Cambridge: Cambridge University Press.
- García-Cebrián, F.; Esteso-Martínez, J. & Gil-Pelegrín, E. (2003). Influence of cotyledon removal on early seedling growth in *Quercus robur* L. *Annals of Forest Science*, 60:69-73.
- Hanley, M.E. & Fegan, E.L. (2007). Timing of cotyledon damage affects growth and flowering in mature plants. *Plant, Cell and Environment*, 30:812-9.

- Hanley, M.E. & May, O.C. (2006). Cotyledon damage at the seedling stage affects growth and flowering potential in mature plants. *New Phytologist*, 169:243-50.
- Howe, H.F.; Brown, J.S. & Zorn-Arnold, B. (2002). A rodent plague on prairie diversity. *Ecology Letters*, 5:30-36.
- Juchum, F.S. (2007). *Análise filogenética das variedades morfológicas foliares de Caesalpinia echinata LAM. (Pau-Brasil) na região sul baiana com base em seqüências de DNA*. Dissertação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia.
- Kennedy, P.G.; Hausmann, N.J.; Wenk, E.H. & Dawson, T.E. (2004). The importance of seed reserves for seedling performance: an integrated approach using morphological, physiological, and stable isotope techniques. *Oecologia*, 141(4):547-54.
- Lewis, G.; Schrire, B.; Mackinger, B. & Lock, M. (2005). *Legumes of the world*. Kew: Royal Botanical Gardens.
- Lovell, P.H. & Moore, K.G. (1970). A comparative study of cotyledons as assimilatory organs. *Journal of Experimental Botany*, 21:1017-30.
- Moles, A.T. & Westoby, M. (2004). What do seedlings die from and what are the implications for evolution of seed size? *Oikos*, 106:193-9.
- Oliveira, O.F. & Morais, P.L.D. (1999). Influência da remoção de cotilédones no desenvolvimento de ramificações nas axilas cotiledonares de plântulas de leguminosas. *Acta Botanica Brasílica*, 13(3):243-9.
- Sassaki, R.M. & Felipe, G.M. (1992). Remoção dos cotilédones e desenvolvimento inicial de *Dalbergia miscolobium*. *Revista Brasileira de Botânica*, 15:5-16.
- Silisbury, H. & Silsbury, J.H. (1992). Nodulation and nitrogen fixation of faba bean (*Vicia faba* L.) as affected by removal of the cotyledons and nitrate supply. *Annals of Botany*, 69:271-81.
- Souza Filho, A.P.S. (2002). Atividade potencialmente alelopática de extratos brutos e hidroalcoólicos de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). *Planta Daninha*, 20(3):357-64.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H. (2005). *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. São Paulo: Instituto Plantarum.
- Thomas, A.L. & Costa, J.A. (1993). Crescimento de plântulas de soja afetado pelo sombreamento dos cotilédones e suas reservas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 28(8):925-9.

Recebido em: 20/10/2011
Versão final em: 17/5/2012
Aprovado em: 30/5/2012