

ACSA

**Agropecuária Científica
no Semiárido**



Frequência estomática entre cultivares de mandioca avaliada por gráficos de caixa

Eli Carlos Oliveira*¹, Édison Miglioranza¹, Luiz Henrique Campos Almeida¹

Recebido em 07/01/2016; Aceito para publicação em 06/12/2016.

*Autor para correspondência.

¹Universidade Estadual de Londrina – UEL. E-mail: elioliveira.agro@gmail.com

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar as dimensões e a frequência de estômatos na face abaxial das folhas de dez cultivares de mandioca através da utilização de gráficos de caixa. As folhas foram coletadas de plantas em pleno desenvolvimento provenientes do experimento instalado em blocos ao acaso com duas repetições, sendo avaliados os parâmetros: densidade estomática, diâmetro polar dos estômatos, diâmetro equatorial e funcionalidade estomática. Os resultados indicaram desempenhos diferentes entre as cultivares para o parâmetro densidade estomática. Foram encontrados cerca de 100 estômatos mm⁻² para cultivar Iapar União, que apresentou a maior distribuição de estômatos por área. A menor densidade estomática entre as cultivares foi verificada para cultivar IAC 90 com 66 estômatos mm⁻².

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz, estômatos, anatomia, box-plot

Stomatal frequency between cassava cultivars evaluated by the box plot

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the size and frequency of stomata on the abaxial surface of leaves of ten cassava cultivars by using box plot. Leaves were collected from plants in full development from experiment installed in randomized block design with two replications, with parameters: stomatal density, stomatal polar diameter, equatorial diameter and stomatal functionality. The results showed different performances among cultivars for stomatal density parameter. About 100 stomata mm⁻² were found to grow Iapar União with the highest distribution of stomata per area. The lowest stomatal density among cultivars was observed for IAC 90 to 66 stomata mm⁻².

Key words: *Manihot esculenta* Crantz, stomata, anatomy, box-plot

INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta arbustiva lenhosa perene, cultivada em regiões tropicais e subtropicais. Suas raízes tuberosas, ricas

em amido, são uma importante fonte de carboidratos, consumidas por cerca de 800 milhões de pessoas em todo o mundo (BENESI, 2008).

Devido sua capacidade produtiva em solos de baixa disponibilidade de nutrientes, quando comparada aos cereais, é caracterizada como uma cultura rústica. Outras vantagens incluem a tolerância à seca e flexibilidade no plantio e colheita. Estes atributos fazem com que a mandioca seja um dos pilares para os agricultores nas regiões de solos pobres e de pouca disponibilidade de águas pluviais (ARYERR et al., 2006; BENESI, 2008; FAVARO et al., 2008). Embora seja considerada uma cultura tolerante à seca, sua produtividade pode ser reduzida em até 60% em condições de déficit hídrico. Desta forma, uma solução mais viável para solucionar este problema é o uso de variedades tolerantes a essa condição adversa.

De maneira geral, as plantas, ao absorverem CO₂, inevitavelmente perdem água pelas folhas, sendo que essa perda ocorre principalmente através dos estômatos. Estudos anatômicos em diferentes variedades da mesma espécie têm mostrado uma grande variação na estrutura, principalmente em resposta às variações da incidência luminosa (MARQUES et al., 2000), ao conteúdo de nutrientes no solo e aos efeitos da sazonalidade (JUSTO et al., 2005), sendo que estas mudanças na estrutura foliar podem afetar a economia hídrica e a fixação de carbono.

Os estômatos têm um papel preponderante no processo de regular simultaneamente o fluxo transpiratório para a atmosfera e o fluxo de CO₂ para o interior da folha. Portanto, a densidade estomática e as dimensões dos estômatos são de extrema importância para a adaptação de espécies em regiões semiáridas ou em ambientes sazonais, onde há uma estação seca claramente definida (PEARCE et al., 2006). Os parâmetros morfológicos dos estômatos, incluindo tamanho, frequência e distribuição variam enormemente entre as diferentes cultivares de um mesmo ambiente (ABRAMS et al., 1994;

BOEGER; WISNIEWSKI, 2003; PANDEY; NAGAR 2003; PEARCE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2014; OLIVEIRA; MIGLIORANZA, 2014), mostrando assim que as plantas possuem a capacidade de ajustar estas características em resposta às pressões ambientais.

Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar as dimensões e a frequência de estômatos na face abaxial das folhas de dez cultivares de mandioca através da utilização de gráficos de caixa.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 10 cultivares de mandioca: baianinha, Caapora, Fécula branca, IAC 12, IAC 13, IAC 14, IAC 15, IAC 576, IAC 90 e IAPAR União, procedentes do IAC da cidade Assis, SP. A área experimental localiza-se nas coordenadas latitude 22°40' S, longitude 50°26' W e altitude média de 563m. O clima da região é do tipo "Cwa", subtropical com inverno seco e verão quente e úmido (MAPA, 1992). Todas as cultivares foram plantadas no mesmo dia em um solo tipo Latosolo Vermelho escuro de textura média. A adubação de base foi realizada com 560 kg ha⁻¹ do adubo formulado 08-28-16.

De cada cultivar de mandioca foram coletadas folhas completamente expandidas em três plantas no mês abril de 2013 das 09:00 às 11:30 horas, onde não houve registro de precipitação, enquanto que a temperatura mínima e máxima registradas foram 14 e 28 °C respectivamente.

As observações nas folhas foram realizadas empregando-se o método de réplica de North (1956), onde uma impressão da superfície foliar foi obtida com acetato de celulose com uma fita adesiva transparente em uma área de aproximadamente de 1,0 cm². Seções da película de acetato formada foram removidas e montadas em lâminas para serem avaliadas ao microscópio. Para as observações utilizou um microscópio

ótico, com ocular de 15x e objetiva de 40x, o que proporcionou aumento de 600x e campo real visível de 0,39 mm². As imagens utilizadas para análise foram capturadas por meio de um sistema de captura (Carl Zeiss, Germany) composto de microscópio AxioPhot I, equipado com câmera AxioCam ICc3 e software Bel View. O processamento e análise das imagens foram realizados através do software de domínio público ImageJ 1.43a, versão 64, com a medição de cinco campos por repetição para cada folha analisada.

Foram avaliados os parâmetros diâmetro polar dos estômatos (DP) e diâmetro equatorial dos estômatos (DQ), segundo técnica de Labouriau (OLIVEIRA; SALGADO-LABORIAU, 1961). Esta técnica, consiste em dimensionar a área do limbo foliar ocupada pelos estômatos obtidos pelo método de réplica. A imagem do estômato é fixada por uma escala conhecida e em seguida através do software image J delimita-se tanto a área da imagem desejada, obtendo assim os diâmetros mencionados. Calcularam-se a densidade estomática (DE - número de estômatos por unidade de área) e a funcionalidade estomática (FUN - considerada como a relação diâmetro polar/diâmetro equatorial dos estômatos), segundo Castro et al. (2009). Para a realização dos testes estatísticos foi utilizado o software Sisvar e Bioestat 5.0. Com a finalidade de se conhecer o comportamento de normalidade dos dados, os mesmos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk (1965) ao nível de probabilidade de 5%. Uma vez que o requisito verificado resultou na distribuição normal, não houve a necessidade de transformação. Assim, os dados foram submetidos à análise de variância usando um índice de significância de 5%, com o intuito de verificar eventuais diferenças entre as cultivares, para os parâmetros avaliados.

Nos parâmetros em que foram verificadas as diferenças significativas entre as cultivares, foi aplicado o gráfico de caixa ou Box-plot, que permite a visualização das diferenças baseado nas estimativas das separatrizes, que são a mediana (md) e os quartis (Qi) (IEMMA, 1992).

A mediana corresponde ao ponto que divide os dados em duas metades iguais (50%) da distribuição e é estimada segundo a equação:

$$md = lmd + \frac{(n / 2 - \text{Fant})}{fmd} \cdot amd$$

Em que: md: mediana; lmd: limite inferior da classe mediana; Fant: frequência acumulada da classe anterior à classe mediana (valor acumulado); fmd: frequência absoluta simples da classe mediana (valor do número de dados observados); amd: amplitude da classe mediana (subtração entre o valor máximo e mínimo da classe).

Os quartis representam porcentagens dos dados, sendo que o primeiro quartil (Q1) envolve 25% dos dados e o terceiro quartil (Q3) envolve 75%, e representados pelas equações:

$$Q1 = lQ1 + \frac{(n / 4 - \text{Fant})}{fQ1} \cdot a$$

e;

$$Q3 = lQ3 + \frac{(3n / 4 - \text{Fant})}{fQ3} \cdot a$$

Em que: lQ1 e lQ3: limites inferiores das classes que contém o primeiro quartil (Q1) e o terceiro (Q3); Fant: frequência acumulada da classe anterior à classe que contém o quartil que está sendo estimado; fQ1 e fQ3: frequências absolutas simples das classes que contém os quartis; a: amplitude da classe do quartil que está sendo estimado.

Após as estimativas da mediana e dos quartis, o gráfico de caixa é esquematizado conforme a Figura 1.

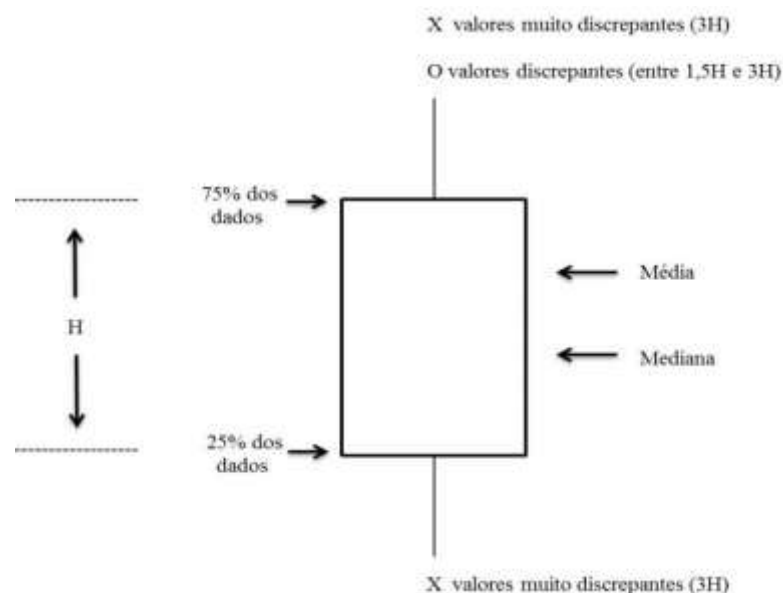


Figura 1 - Representação gráfica do diagrama de caixa com importantes aspectos de um conjunto de dados.

As medianas com valores menores que a média indica a existência de assimetria positiva, enquanto que as medianas maiores que a média corresponde à assimetria negativa. Valores discrepantes são os valores que apresentam médias bem diferentes em relação à média dos demais tratamentos, mas que podem ser considerados aceitáveis. Os valores muito discrepantes são valores extremamente diferentes em relação aos demais e devem ser estudados com maior cuidado. A construção de gráficos de caixa permite verificar de

forma simples e rápida se há distinção do comportamento geral entre as cultivares.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constaram-se diferenças significativas entre as cultivares apenas para o parâmetro densidade estomática (DE). No entanto, diâmetro polar dos estômatos (DP), diâmetro equatorial (DQ) e funcionalidade dos estômatos (FUN) não diferiram ($p \geq 0,05$). Na Tabela 1 está apresentado o resumo da análise de variância assim como os valores de significância para o teste F.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância com os quadrados médios e coeficientes de variação referentes à densidade estomática (DE), diâmetro polar dos estômatos (DP), diâmetro equatorial dos estômatos (DQ) e a funcionalidade estomática (FUN)

Causa da variação	GL	DE	DP	DQ	FUN
Cultivares	09	1272,78*	25,04 ^{ns}	8,83 ^{ns}	7,65 ^{ns}
Resíduo	80	60,09	0,90	1,00	1,23
Total	89	---	---	---	---
CV(%)		9,29	2,19	3,86	2,19

*: significativo a 5% para o teste F; ^{ns}: não significativo para o teste F. CV(%) = Coeficiente de variação; GL = Grau de liberdade.

Na Figura 2 estão apresentadas as densidades estomáticas na face abaxial das folhas de cada cultivar. Observa-se que a cultivar Iapar União apresentou a maior distribuição de estômatos por área (100), enquanto que a menor densidade estomática entre as cultivares foi verificada a cultivar IAC 90 (66 estômatos mm^{-2}). No entanto, os limites inferiores e superiores das "caixas" que englobam 25% e 75% dos valores das duas cultivares foram distantes no limite superior. Isto significa que as médias

entre as duas cultivares são as mais discrepantes entre todas as demais cultivares, explicando a superioridade da cultivar Iapar União e a inferioridade da IAC 90 no que se refere ao parâmetro densidade estomática (Figura 2). Em relação às demais cultivares, observou-se que em termos de média todas se comportaram de forma semelhante, ocorrendo apenas dispersão para as cultivares Baianinha e IAC 14 nos limites inferiores que englobam 75% das médias (Figura 2).

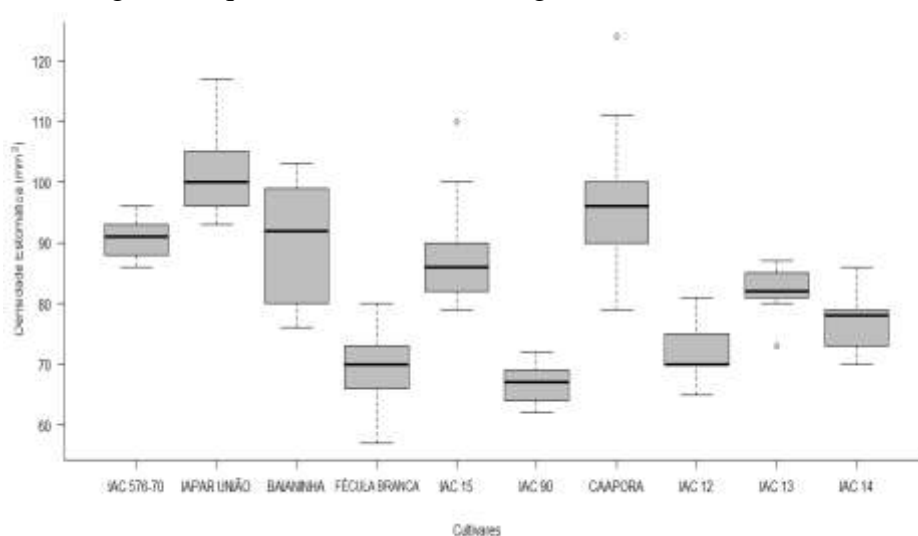


Figura 2 - Gráficos de caixa (Box-plot) relativos ao parâmetro densidade estomática na face abaxial de folhas entre diferentes cultivares de mandioca.

As variações nas densidades estomáticas, normalmente estão relacionadas com vários fatores, inclusive entre cultivares da mesma espécie e ambientes com altas sazonalidades, relacionadas à redução na disponibilidade hídrica. Coincidentemente com os resultados encontrados nesta pesquisa, outros autores verificaram variações na densidade estomática entre indivíduos da mesma espécie e sempre utilizando testes de comparação entre as médias (RODELLA et al., 1982; CERQUEIRA, 1992; SERNA; FENOLI, 2000; OLIVEIRA; MIGLIORANZA, 2013).

De maneira geral, quanto mais estômatos forem verificados por unidade

de área, mais CO_2 é absorvido, mas também maior a perda de água por transpiração. Altas densidades estomáticas podem amplificar o controle sobre as taxas de perda de água e absorção de CO_2 .

Por outro lado, baixa densidade estomática contribui muito para a redução da transpiração excessiva em condições adversas como altas temperaturas e falta de água. Portanto, também é de esperar que folhas expostas a condições de escassez hídrica devem ter uma densidade de estômatos menor em ambientes com sol. Desta forma, faz-se necessário que novos trabalhos sejam realizados com o intuito de verificar a

correlação entre a densidade estomática com as variações presentes no ambiente de produção, como a disponibilidade de luz solar ou água. De toda forma, cabe ressaltar que, neste trabalho apenas considerou uma única condição climática para todos cultivares, mencionadas na metodologia.

CONCLUSÕES

Os gráficos de caixa demonstram ser uma ferramenta complementar para avaliar parâmetros comparativos entre cultivares.

Há diferenças entre as cultivares de mandioca em relação à densidade estomática.

A cultivar Iapar União apresentou o maior número de estômatos, 100 por mm⁻². E a menor densidade, com 66 estômatos mm⁻² para IAC 90.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Agronomico de Campinas - IAC pelo acesso das cultivares de mandioca utilizada nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, M. D.; KUBISKE, M. E.; MOSTOLLER, S. A. Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. **Ecology**, v.75, p.123-133, 1994.
- ARYEE, F. N. A.; ODURO, I.; ELLIS, W. O.; AFUAKWA, J. J. The physicochemical properties of flour samples from the roots of 31 varieties of cassava. **Food Control**, v.17, p.916-922, 2006.
- BENESI, I. R. M.; LABUSCHAGNE, M. T.; HERSELMAN, L.; MAHUNGU, N. M.; SAKA, J. K. The effect of genotype, location and season on cassava starch extraction. **Euphytica**, v.160, p.59-74, 2008.
- BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, p.61-72, 2003.
- MAPA. **Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Normais climatológicas de 1961- 1990**. Brasília, Brasil, 1992.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: estrutura e função dos órgãos vegetativos**. Lavras, Brasil, 2009. 300p.
- CERQUEIRA, Y. M. Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz. I- Densidade estomática. **Sitientibus**, v.10, p.103-115, 1992.
- FAVARO, S. P.; BELEIA, A.; FONSECA, N. S.; WALDRON, K. W. The roles of cell wall polymers and intracellular components in the thermal softening of cassava roots. **Food Chemistry**, v.108, p.220-227, 2008.
- IEMMA, A. F. Outros parâmetros e aplicações In: IEMMA A.F. (Ed.) Estatística descritiva. Piracicaba: **Pap publicações**, v.3, p.123-136, 1992.
- JUSTO, C. F.; SOARES, A. M.; GAVILANES, M. L.; CASTRO, E. M. Leaf anatomical plasticity of *Xylopia brasiliensis* Sprengle (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.19, p.111-123, 2005.
- LABOURIAU, L. G.; OLIVEIRA J. G.; SALGADO-LABOURIAU, M. L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais, Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.35, p.237-257, 1961.
- MARQUES, A. R.; GARCIA, Q. S.; PASSOS REZENDE, J. L.;

- FERNANDES, G. W. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology**, v.41, p.47-56, 2000.
- NORTH, C. A. Technique for measuring structural features of plant epidermis using cellulose acetate films. **Nature**, v.178, p.1186-1187, 1956.
- OLIVEIRA, E. C.; MIGLIORANZA, E. Dimensões e densidade estomática em diferentes variedades de mandioca. **Revista Cultivando o Saber**, v.6, p.201-213, 2013.
- OLIVEIRA, E. C.; MIGLIORANZA, E.; ANDRADE, F. A.; GONÇALVES, L. S. A. Abaxial and adaxial stomatal density, stomatal characteristics between genotypes of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.57, p.283-284, 2014.
- OLIVEIRA, E. C.; MIGLIORANZA, E. Densidade e distribuição estomática em mandioca *Manihot esculenta* Crantz cultivar IAC 576-70. **Scientia Agropecuaria**, v.5, p.135-140, 2014.
- PANDEY, S.; NAGAR, P. K. Patterns of leaf surface wetness in some important medicinal and aromatic plants of Western Himalaya. **Flora**, v.198, p.349-357, 2003.
- PEARCE, D. W.; MILLARD, S.; BRAY, D. F.; ROOD, S.B. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. **Tree Physiology**, v.26, p.211-218, 2006.
- RODELLA, R. A.; ISHIY, C. M.; MAIOMONI, R. C. S.; AMARAL JUNIOR, A. Número e distribuição dos estômatos em folhas de duas espécies de Brachiária, **Revista Poliagro**, v.4, p.1-10, 1982.
- SERNA, L.; FENOLI, C. Stomatal development in Arabidopsis: how to make a functional pattern. **Trends in Plant Science**, v.5, p.458-460, 2000.
- SHAPIRO, S. S.; WILK., M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v.52, p.591-611, 1965.