

# FORMAÇÃO DE MEMBRANAS DE CALOSE NO PLASMALEMA DE CÉLULAS PLASMOLISADAS (\*)

KARL ARENS e ANTONIA LÉLIA G. PICCOLO

Departamento de Botânica, Faculdade de Filosofia, Ciências  
e Letras de Rio Claro

## INTRODUÇÃO

A calose é um poliholósido, de fórmula geral  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , formado somente por moléculas de glicose. É uma substância distinta da celulose e da pectina. A calose pode impregnar algumas membranas durante algum tempo e depois ser reabsorvida muito facilmente. Pelo método clássico, é colorida de azul com azul de anilina.

Como foi indicado por ESAU (1939), uma associação especial de calose com placas crivadas tem sido reconhecida há mais de um século. Um estudo da sua ocorrência foi feito por CURRIER (1957); esse autor fez um estudo da distribuição da calose numa variedade de vegetais; observou que a formação de calose é relativamente lenta em tecidos dormentes e rápida em tecidos ativos; os tecidos mais velhos respondem mais lentamente do que os mais jovens.

É reconhecida a hipótese que num tecido injuriado é provocada a formação de calose: assim ESCHRICH (1957) observou a sua formação em células epidérmicas plasmolisadas de *Allium cepa* L.; quando estas células são deplasmolisadas, a calose dissolve-se no fim de 2 horas. Um ano mais tarde, FEINGOLD, NEUFELD & HASSID mostraram que preparações homogeneizadas de plântulas de feijão são capazes de catalizar a

---

(\*) Trabalho apresentado em Reunião Anual da S.B.P.C., realizada em São Paulo, em julho de 1968.

formação de material insolúvel, radioativo de UDP-glicose -  $^{14}\text{C}$ , que foi reconhecido como sendo calose.

Outros trabalhos vieram demonstrar a importância de cátions na formação de calose; no trabalho de ESCHRICH e colaboradores (1964), foi verificada a absorção de  $\text{Ca}^{45}$  pelas raízes de *Cucurbita maxima* Duchesne, e a sua distribuição por toda a planta, sendo que nos tubos crivados ocorreram depósitos de calose com  $\text{Ca}^{45}$ ; essa observação levou-os a afirmar a necessidade de cátions bivalentes para a formação de calose.

No presente trabalho, estudaram-se as condições que favorecem a síntese da nova membrana na célula plasmolisada e a sua impregnação total ou parcial por meio de calose.

## MÉTODOS

O material escolhido foi *Elodea densa* Planch., uma planta aquática da família Hydrocharitaceae.

O método desenvolvido foi o seguinte: as folhas de *Elodea* (mais ou menos 50) eram colocadas em Placas de Petri, contendo solução 0,3 M de  $\text{CaCl}_2$ , para haver a plasmolização das células. Após um tempo determinado (de 1 hora até 7 dias), algumas folhas eram examinadas no microscópio para verificar se as células continuavam vivas. Quando isso se verificava, a folha era corada com azul de anilina durante 15 minutos. Em seguida o material passava para outra lâmina contendo solução de  $\text{CaCl}_2$ , 0,3 M com uma gota de amônia diluída para alcalinizar; o material era examinado num microscópio Zeiss com luz fluorescente. O método da fluorescência com azul<sup>2</sup> de anilina foi introduzido na técnica por ARENS (1949) e consiste na passagem da base incolor para ligeiro amarelo quando em pH alcalino. A fluorescência do azul de anilina permite determinar traços mínimos de calose.

O método foi repetido, substituindo  $\text{CaCl}_2$  por KCl, 0,3 M ou por uma mistura de ambos, em proporções iguais. Repetimos o método fazendo pré-tratamento com solução de EDTA, 10<sup>-3</sup> M e plasmolisando com sacarose.

Todas as experiências foram realizadas a uma temperatura ambiente de 20°-25°C.

## RESULTADOS

### 1. O efeito do $\text{Ca}^{++}$ .

As células plasmolisadas em solução de  $\text{Ca}^{++}$ , na presença da luz se mantiveram vivas durante mais de uma semana.

Após 48 horas, observou-se a formação de uma membrana de calose, bastante nitida, sobre o plasmalema nu.

Observou-se a morte de células após 24 horas de ausência de luz, e as que se mantiveram vivas ficaram plasmolisadas, não foi observado deposição de calose sobre o plasmalema dessas células.

## 2. O efeito do $K^+$ .

Os resultados na presença de luz, foram:

após 1 hora, as células estavam vivas e não foi observado calose;

após 4,30 horas, grande parte das células estavam vivas, algumas mortas e não foi observado calose;

após 40 horas, todas as células estavam mortas, mostrando que a célula plasmolisada em solução de  $K^+$ , não se mantém viva e não forma calose.

Não foram realizadas experiências na ausência de luz, pois a viabilidade das células seria ainda menor.

## 3. O efeito do $K^+$ e $Ca^{++}$ , numa proporção de 50% cada.

A observação feita 10 dias após o início da experiência, mostrou que grande parte das células ainda estavam vivas, e apresentavam muita deposição de calose. Essas mesmas folhas foram colocadas na ausência de luz durante 48 horas. A observação feita após, mostrou que grande parte das células ainda estavam vivas e plasmolisadas.

## 4. O efeito do EDTA na presença da luz.

Folhas de *Elodea* foram pré-tratadas com EDTA,  $10^{-3}$  M, durante 10 minutos; em seguida foram plasmolisadas com solução de sacarose pura, 0,3 M; após 15 horas, foi feita observação. As células não se mantêm plasmolisadas, e não houve formação de calose. O EDTA retirou o  $Ca^{++}$  da membrana, permitindo a entrada de sacarose na célula, provocando deplasmólise em solução de sacarose.

O efeito do EDTA pode ser revertido parcialmente, se a plasmólise for realizada por uma mistura de soluções 0,3 M, de sacarose e  $CaCl_2$ , numa proporção de 50% cada. Após 5 horas, as células estavam vivas e plasmolisadas; 30 horas depois, as células continuavam vivas e apresentavam grande deposição de calose; em 4 dias, todas as células estavam mortas.

## DISCUSSÃO

Inicialmente, é necessário ressaltar, que consideramos o estado anormal da célula, daí, existirem condições para a formação de calose, de acôrdo com a hipótese já conhecida. Entretanto, só ocorreu a formação de membranas de calose em condições especiais: as células permaneceram na luz e na presença de  $\text{Ca}^{++}$ . Ainda não sabemos se outros ions bivalentes têm o mesmo efeito, ou se é específico do  $\text{Ca}^{++}$ . Com ions monovalentes, como o  $\text{K}^+$ , não há formação de calose.

A membrana de calose pode ser reabsorvida como foi afirmado por vários autores. No nosso trabalho, não vimos essa reabsorção, mesmo quando as folhas ficaram na ausência de luz. Este fato pode ter a seguinte explicação: observamos que a calose pode se depositar de 2 maneiras: como um filme sobre o plasmalema, ou como partículas dispersas; este segundo tipo poderia, talvez, indicar os lugares de pontuações na célula intacta. Não havendo transporte, por estarem as ligações interrompidas, a calose se depositaria nesses lugares e não haveria reabsorção.

## BIBLIOGRAFIA

- ARENS, K., 1949 — Prova de calose por meio da microscopia à luz fluorescente e aplicações do método. *Lilloa* 18: 71-75.
- CURRIER, H. B., 1957 — Callose substance in plant cells. *Amer. J. Bot.* 44: 478-88.
- ESAU, K., 1939 — Development and structure of the phloem tissue. *Bot. Rev.* 5: 373-432.
- ESCHRICH, W., 1957 — Kallosebildung in plasmolysierten *Allium cepa* Epidermen. *Planta* 48: 578-86.
- ESCHRICH, W., B. ESCHRICH & H. B. CURRIER, 1964 — Histodiographischer Nachweis von Calcium — 45 in Phloem von *Cucurbita maxima*. *Planta* 63(2): 146-54.
- FENGGOLD, D. S., E. F. NEUFELD & W. Z. HASSID, 1958 — Synthesis of a B - 1 - 3 - linked glucan by extracts of *Phaseolus aureus* seedlings. *J. Biol. Chem.* 233: 783-88.