

# ESTUDO MORFO-ANATOMICO DAS SEMENTES E PLANTULAS DE *Eucalyptus robusta* Sm.<sup>1</sup>

C. M. BELTRATI\*

## Resumen

*Los aspectos morfológicos y anatómicos de las semillas y plántulas jóvenes de Eucalyptus robusta Sm. fueron estudiados en detalle. Se hicieron también algunas observaciones de los tipos de óvulos a partir de los cuales se desarrollan las semillas fértiles y estériles*

## Introdução

Com o estudo de *Eucalyptus robusta* Sm., se continuam trabalhos anteriores relativos à morfologia e anatomia das sementes de diferentes espécies de *Eucalyptus* L'Herit cultivadas no Brasil, já citados (2). Visamos não só fornecer bases para a identificação desta espécie, nas fases de semente e plântula, como também observar os tipos de óvulos, dos quais provêm as sementes férteis e estéreis que caracteristicamente ocorrem em diferentes espécies do gênero.

Na literatura, se encontram apenas os trabalhos de Zucconi (9) sobre *E. camaldulensis* Dehn e Gauba e Pryor (4), com *E. microcorys* F. Muell, que mencionam o assunto.

## Material e métodos

O material utilizado no presente trabalho consistiu de botões florais, flores abertas, frutos novos, frutos maduros e sementes de *Eucalyptus robusta* Sm. provenientes de Horto Florestal "Navarro de Andrade", de Rio Claro (SP), colhidos de matrizes selecionadas.

O material foi, em parte examinado a fresco e, em parte, fixado em FAA 50 (7) para estudo posterior.

As determinações do peso de 100 sementes férteis bem como a porcentagem média de sementes estéreis (em peso), foram feitas através de amostras casuais, em balança analítica. Verificou-se, também, o número médio de sementes férteis por grama de sementes misturadas. Para determinação das dimensões médias das sementes foi utilizada uma ocular de medição aferida com lâmina micrométrica.

Para as observações e ilustrações foram utilizados microscópio óptico e esteriomicroscópio, ambos providos de câmara clara.

Os estudos anatómicos foram feitos através da observação de seções transversais, longitudinais e paradermicas das diferentes estruturas, realizadas a mão livre, sob esteriomicroscópio.

Os cortes foram montados em glicerina a 10%, conseguindo se preparações semi-permanentes (8).

Para os testes histoquímicos os cortes de material fresco foram submetidos a corantes e reagentes específicos (1).

Para observação dos aspectos morfológicos da germinação, as sementes foram colocadas em placas de Petri, sobre papel de filtro úmido em condições de luminosidade e temperatura ambientais (média de 26°C).

A terminologia adotada na descrição das sementes segue Corner (3).

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 12 de junho de 1983.

\* Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" – Departamento de Botânica – Instituto de Biociências – Rio Claro, SP – Brasil

## Resultados

Em *Eucalyptus robusta*, as amostras estudadas continham sementes aparentemente viáveis, providas de embrião e dois tipos de sementes estéreis, que foram designados A e B. Esses dois tipos, desprovidos de embrião, podem ser distintos pela forma, dimensões e coloração.

A porcentagem média (em peso) de sementes estéreis foi de  $94 \pm 3\%$ , havendo em média  $94 \pm 19$  sementes férteis por grama de sementes misturadas. O peso médio de 100 sementes férteis foi de  $34.6 \pm 3.0$  mg.

**Características das sementes férteis** (Figuras 1 a 3): sementes anátropas, de formas, em geral, poliédricas; às vezes cúbicas, trapezoidais; coloração marrom médio; superfície pouco brilhante, marcada por finíssimas estrias transversais; bordo liso; asa rudimentar, muito estreita, ao longo das arestas; hilo basal, circular, de coloração pouco mais clara que o restante da testa; micrópila visível externamente na semente seca, abaixo do hilo, como uma pequena abertura no centro de uma mancha escura; região da chalaza marcada por mancha circular escura; rafe como longa faixa que se estende do hilo até a chalaza; anti-rafe uniforme. Medem em média  $1.29 \pm 0.16$  mm de comprimento por  $0.83 \pm 0.12$  mm de largura.

**Características das sementes estéreis** (Figuras 4 e 5): **Tipo A** – alongada; cilíndrica, falcada, cônica; coloração marrom médio, avermelhado; superfície pouco brilhante; hilo basal; medindo em média  $1.78 \pm 0.40$  mm de comprimento por  $0.54 \pm 0.08$  mm de largura.

**Tipo B** – achatada; trapezoidal, falcada, cônica; cor marrom médio, amarelado; superfície pouco brilhante, hilo basal; medindo em média  $1.10 \pm 0.17$  mm de comprimento por  $0.63 \pm 0.14$  mm de largura.

**Origem e estrutura das sementes férteis e estéreis:** Examinando-se botões florais e flores de *Eucalyptus robusta*, observou-se ser o ovário infero, envolvido pelo receptáculo floral; tricarpelar e trilobular, com placentação axial (Figuras 12 e 13).

Cada lóculo contém grande número de óvulos que, na cavidade ovariana propriamente dita, se inserem perpendicularmente ao eixo longitudinal da placenta e são do tipo anátropo típico, enquanto que no cone apical do ovário, vão assumindo posição paralela a esse eixo (Figura 12), sendo também anátropos, porém atípicos.

Os óvulos anátropos típicos são crassinucelados e apresentam dois tegumentos biestratificados. Apresentam três cutículas bem distintas: a externa, cobrindo a superfície, a mediana, entre os dois tegumentos e a interna entre o tegumento interno e o nucelo (Figura 16). A micrópila é delimitada por ambos os tegumentos (Figura 14). No interior do funículo observa-se um pequeno feixe vascular que termina na região da chalaza (Figura 15).

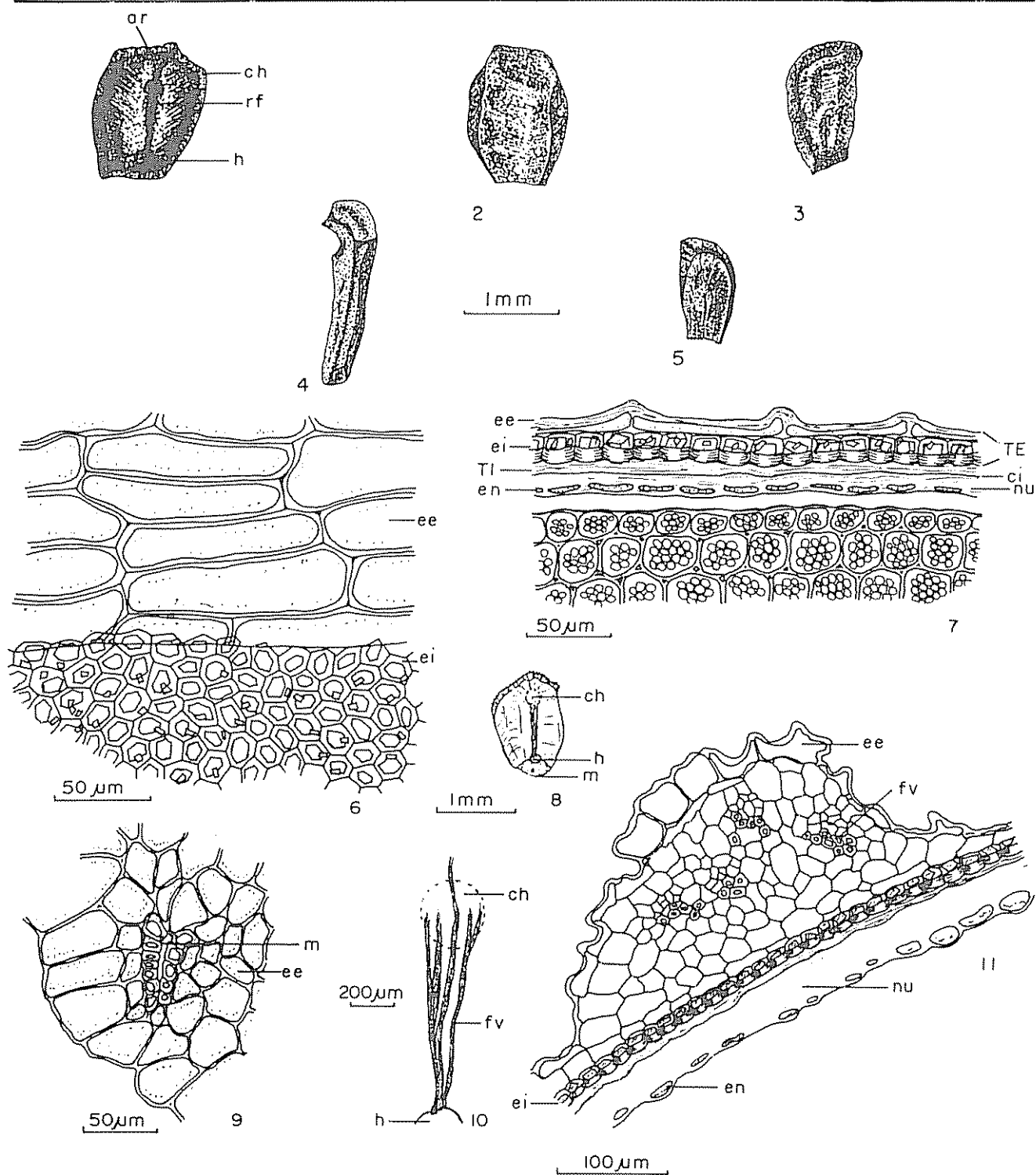
Os óvulos atípicos (Figuras 17 e 18) são muito alongados longitudinalmente, prismáticos, com micrópila basal, de difícil observação (Figura 19). São constituídos por apenas um tegumento, em sua maior parte biestratificado e o longo funículo, que contém um feixe vascular. As células da epiderme externa do tegumento são alongadas perpendicularmente à superfície e, a epiderme interna consta de pequenas células cúbicas que delimitam uma estreita cavidade vazia, alongada transversalmente que se estende do ápice até a base do óvulo, onde se comunica com a micrópila.

Observando-se frutos novos e desenvolvidos, verificou-se que os óvulos atípicos transformam-se em sementes estéreis do tipo A. Estas consistem apenas da epiderme externa, a qual apresenta células alongadas perpendicularmente à superfície, com paredes radiais e externas fortemente espessadas e lignificadas (Figuras 20, 21 e 23) do mesmo modo que o tecido subepidérmico que envolve o pequeno feixe vascular (Figuras 21 e 22). O embrião e o endosperma estão ausentes.

Os óvulos anátropos típicos podem desenvolver-se tanto em sementes férteis como em sementes estéreis do tipo B. Foram observadas, em geral, apenas uma ou duas sementes férteis por lóculo e, sua localização varia, podendo ser mediana ou basal, isto é, no fundo da cavidade.

Os óvulos anátropos típicos, não fecundados ao que tudo indica, desenvolvem-se em sementes estéreis do tipo B, cuja forma anátropa é bem evidente. Suas características histológicas assemelham-se às observadas nas sementes estéreis do tipo A.

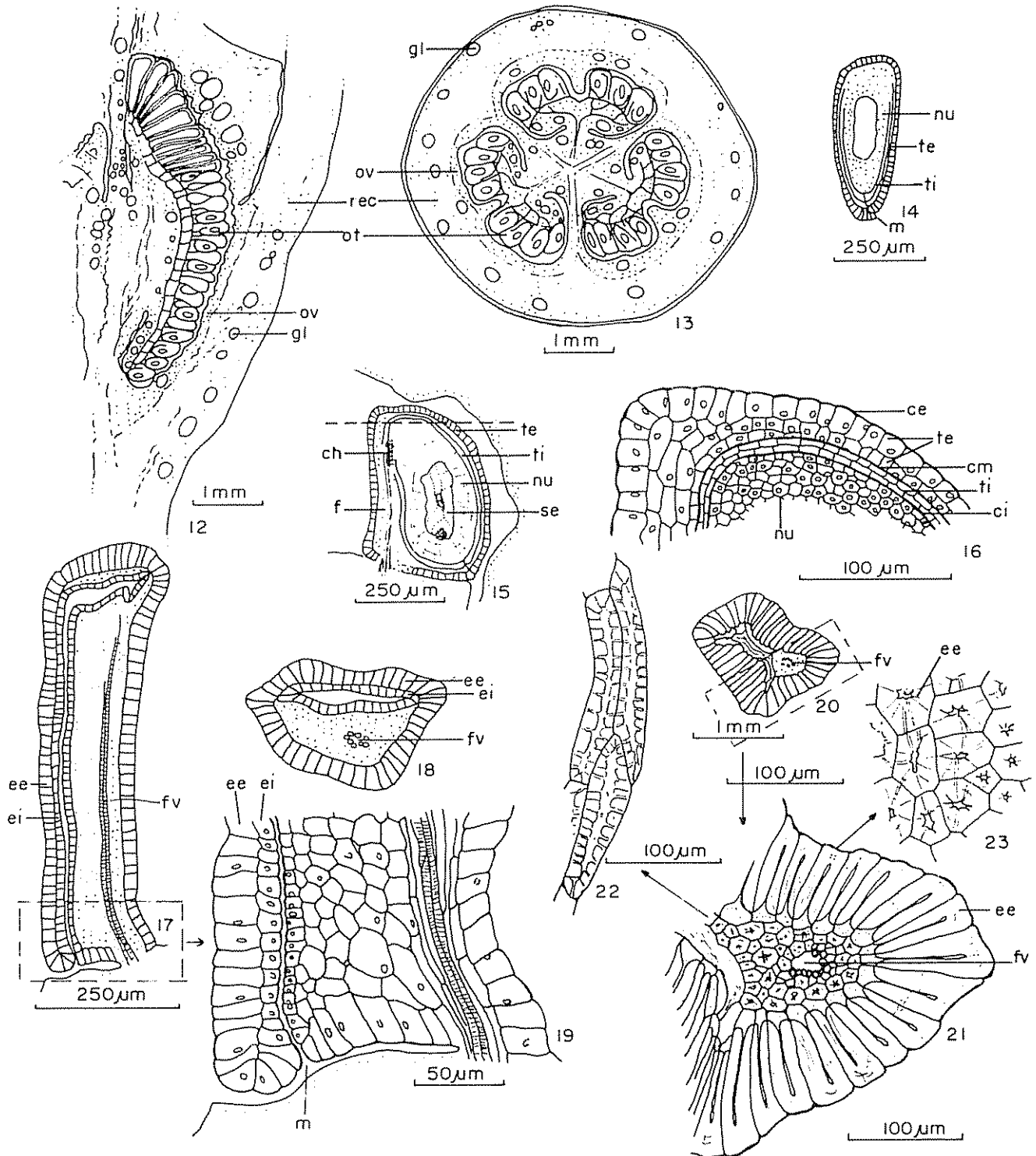
A semente fértil madura tem como envoltórios dois tegumentos, remanescentes do nucelo e do endosperma. O embrião (Figuras 22 e 23) consta de 2 cotilédones espessos, dobrados, inseridos próximo ao ápice do eixo hipocótilo-radícula (Figuras 26 e 27), entre os quais encontra-se o meristema caulinar. O eixo hipocótilo-radícula é cilíndrico e mede cerca de 0.9 mm de comprimento por 0.4 mm de diâmetro, havendo em sua extremidade inferior o meristema radicular e o caliptrógeno parcialmente envolvidos pelo órgão cupuliforme que é uma saliência basal do córtex do hipocótilo (Figura 26).



Figs. 1 a 5. Aspecto externo das sementes. Figuras 1 a 3 – semente fértil; Figura 4 – semente estéril tipo A; Figura 5 – semente estéril tipo B

Figs 6 a 11 Anatomia dos envoltórios da semente fértil. Figuras 6 e 7 – respectivamente seções paradérmica e transversal dos envoltórios da semente fértil (região da antirafe); Figura 8 – diagrama da semente mostrando a posição do hilo, da chalaza e da micrópila; Figura 9 – seção paradérmica na região micropilar; Figura 10 – padrão de vascularização; Figura 11 – seção transversal através da rafe.

(ar = asa rudimentar; ch = chalaza; ei = cutícula interna; e = embrião; ee = epiderme externa; ei = epiderme interna; en = endosperma; h = hilo; m = micrópila; nu = nucelo; rf = rafe; fv = feixe vascular; TE = testa; TI = tegmen)



Figs 12 e 13. Respectivamente diagrama das seções longitudinal e transversal do ovário envolvido pelo receptáculo floral

Figs 14 e 16 Óvulo anátropo típico. Figura 14 – diagrama da seção longitudinal transmediãna; Figura 15 – diagrama da seção longitudinal; Figura 16 – detalhe da região assinalada na Figura 15

Figs 17 a 19 Óvulo anátropo atípico. Figura 17 – diagrama da seção longitudinal; Figura 18 – diagrama de seção transversal; Figura 19 – detalhe da região assinalada na Figura 17

Figs 20 a 23 Semente estéril tipo A. Figura 20 – diagrama do corte transversal mediano; Figura 21 – detalhe da região assinalada na Figura 20; Figura 22 – seção longitudinal dos esclereídeos que envolvem o feixe vascular; Figura 23 – seção paradérmica da semente, passando pela epiderme externa

(ce = cutícula externa; ch = chalaza; ci = cutícula interna; cm = cutícula mediana; ee = epiderme externa; ei = epiderme interna; f = funículo; fv = feixe vascular; gl = glândula; m = micrópila; nu = nucelo; oa = óvulo anátropo atípico; ot = óvulo anátropo típico; ov = ovário; rec = receptáculo floral; se = saco embrionário; te = tegumento externo; ti = tegumento interno)

O tegumento externo ou testa (Figuras 6 e 7) na região da anti-rafe consta apenas de duas epidermes e constitui a camada pigmentada da semente. A epiderme externa consta de células tabulares, alongadas em sentido transversal, cujas paredes anticlinais externas são algo espessadas e côncavas, encostando-se parcialmente nas internas, fazendo desaparecer o lúmen. Ficam salientes apenas as paredes anticlinais, que constituem as estrias observadas na superfície da testa. Na região da rafe (Figura 11), observa-se um maior número de camadas de células parenquimáticas que envolvem o feixe vascular colateral que parte do hilo, ramifica-se e se estende até a chalaza (Figuras 8 e 10).

A epiderme interna consta de células retangulares em seção transversal (Figura 7) e pentagonais ou hexagonais, em seção paradérmica (Figura 6), cujas paredes periclinais internas são fortemente espessadas e cada célula contém um ou mais cristais de oxalato de cálcio.

Substâncias fenólicas de coloração marrom, aparecem dissolvidas no interior das células e impregnando as paredes celulares de testa.

O tegumento interno encontra-se quase que totalmente reabsorvido, sendo distinto apenas ao longo da rafe, onde podem ser observadas duas camadas de células, não muito nítidas.

As cutículas externa e mediana desaparecem na semente madura, ficando evidente apenas a interna, entre o tegumento interno e os restos do nucelo, os quais constituem um fino estrato.

Do endosperma resta uma única camada de células ricas em proteínas e gotículas de óleo (Figuras 6 e 11).

O tecido da chalaza é suberificado e suas células apresentam conteúdo denso, de natureza fenólica e de coloração marron-avermelhado.

A superfície do hilo é côncava, apresentando células de paredes finas, frequentemente rompidas. A micrópila (Figura 9) é uma pequena fenda rodeada por pequenas células de paredes mais espessas e as demais células, que rodeiam a abertura, apresentam conteúdo denso, de coloração marrom, bem escura.

A asa rudimentar é constituída pelos dois tegumentos, sendo que as células da epiderme externa apresentam-se perpendicularmente alongadas e a camada cristalífera forma uma dobra elevada, acompanhada pelo tegumento interno. A cutícula interna não se eleva.

O eixo hipocótilo-radícula (Figura 24) consta de protoderme, composta de células cúbicas, sob as quais se observam 7 a 8 camadas de células arredondadas do meristema fundamental, que deixam pequenos espaços intercelulares. Este ocorre no centro, como precursor de medula, rodeado por um cilindro procambial com 5 a 6 camadas de células estreitas e alongadas.

Na face adaxial do cotilédone (Figura 25), sob a protoderme, ocorre uma camada de células dispostas em paliçada e, a seguir 5 a 6 camadas de células que deixam pequenos espaços intercelulares.

Ao longo de todo o eixo hipocótilo-radícula aparecem, em formação, pequenas glândulas de óleo que ocorrem também, com menos frequência, em ambas as faces dos cotilédones.

Os tecidos do embrião, exceto o procâmbio e as células glandulares, são ricos em grãos arredondados de aleurona e gotículas de óleo.

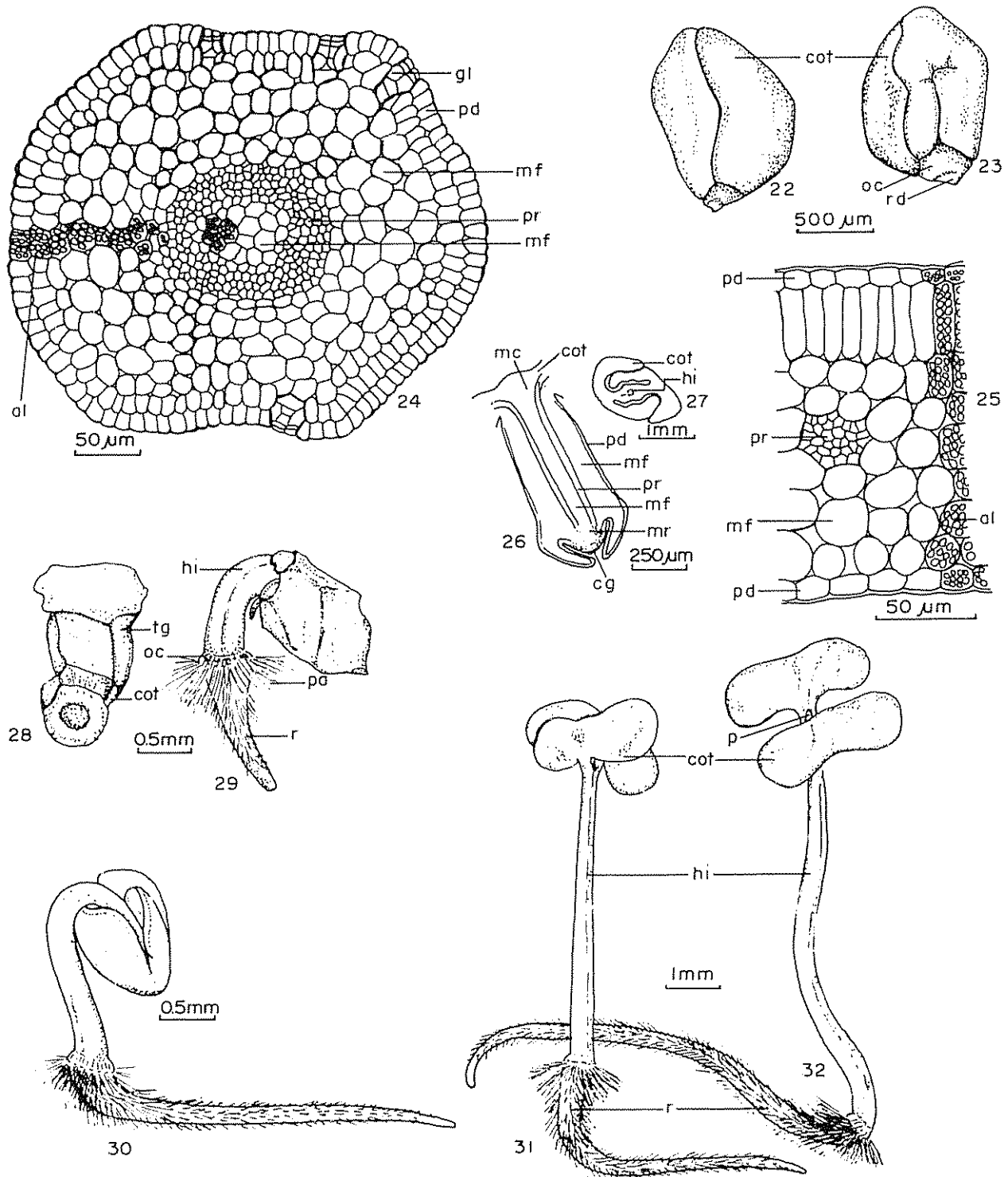
**Germinação e caracteres morfológicos da plântula:** Colocadas em condições favoráveis, as sementes embebem-se rapidamente e em 3 a 4 dias os tegumentos se rompem na região micropilar, emergindo a radícula, parcialmente envolvida pelo órgão cupuliforme (Figura 28). Este, depois de desenvolvido mede cerca de 0,1 mm de largura, sendo recoberto por densa coroa de longos pelos absorventes (Figura 29). Em 6 a 8 dias os tegumentos se desprendem (Figura 30) e o hipocótilo torna-se ereto, fixo ao substrato pelo órgão cupuliforme que se mantém funcional por cerca de 30 a 35 dias, ocasião em que começa a secar.

A raiz primária e o hipocótilo alongam-se rapidamente (Figuras 31 e 32) e os cotilédones desdobram-se em 12 a 13 dias, sendo verdes em ambas as faces e bilobados, observando-se entre eles, a plúmula. O hipocótilo é de seção quadrangular e adquire coloração rósea devido à presença de antocianinas em suas células epidérmicas. O epicótilo só inicia seu desenvolvimento após 20 a 25 dias.

### Discussão

Entre as diferentes espécies de *Eucalyptus*, as características morfo-anatômicas das sementes variam, sendo importantes na determinação das espécies. Gauba e Pryor (4, 5, 6) ressaltam o valor taxonômico da estrutura dos tegumentos das sementes de muitas das espécies.

As sementes variam de anátropas a hemitropas e Corner (3) chamou a atenção para o fato de que esses tipos ainda não foram devidamente correlacionados com os tipos de óvulos dos quais provêm.



Figs 22 a 25 Embrião. Figuras 22 e 23 – aspecto externo do embrião; Figura 24 – seção transversal do eixo hipocótilo-radícula; Figura 25 – setor de seção transversal do cotilédone; Figura 26 – diagrama da seção longitudinal do eixo hipocótilo-radícula; Figura 27 – diagrama de seção transversal do eixo hipocótilo-radícula na região de inserção dos cotilédones

Figs. 28 a 32 Estágios sucessivos de desenvolvimento da plântula, após a colocação das sementes em condições de germinação. Figura 28 – plântula após 4 dias; Figura 29 – plântula após 6 dias; Figura 30 – plântula após 8 dias; Figura 31 plântula após 11 dias; Figura 32 – plântula após 16 dias

(al = grãos de aleurona; cg = caliptrógeno; cot = cotilédone; gl = glândula em formação hi = hipocótilo; mc = meristema caulinar; mf = meristema fundamental; mr = meristema radicular; oc = órgão cupuliforme; p = plúmula; pa = pelos absorventes; pd = protoderme; pr = procâmbio; r = raiz primária; rd = radícula; tg = tegumentos)

Em *Eucalyptus microcorys* (4) há óvulos hemitropos que, se fertilizados, dão origem a sementes férteis e, em caso contrário, dão sementes estéreis do tipo B. Ao lado destes, ocorrem óvulos átropos, que originam as sementes estéreis tipo A. Em *E. robusta*, segundo observamos, as sementes tipo A provêm de óvulos anátropos atípicos. Resultado semelhante foi encontrado em *E. camaldulensis* Dehn. (9), em que foi verificado que óvulos fecundados podem degenerar no estado de zigoto ou em estágio mais desenvolvido, originando sementes estéreis. Desconhece-se, porém, a causa do fenômeno que foi atribuído ao patrimônio genético do indivíduo. Zucconi (9) observou que as sementes estéreis do tipo B encontram-se em posição intermediária entre as do tipo A, no ápice da cavidade ovariana e as férteis, no fundo do ovário. Em *E. robusta* essa constância não foi observada.

#### Summary

Morphological and anatomical aspects of seeds and seedlings of *Eucalyptus robusta* Sm. were studied in detail. The ovule types from which the fertile and sterile seeds are originated, were also examined.

#### Literatura citada

1. BELTRATI, C. M. Morphological and anatomical studies of the seeds and seedlings of *Eucalyptus pilularis* and *E. umbra*. *Revista de Biologia Tropical*, 29(2):185-195. 1981.
2. BELTRATI, C. M. Morfologia e anatomia das sementes e plântulas de *Eucalyptus intermedia* R. T. Baker. *Turrialba*, 32(3):301-308. 1982.
3. CORNER, E. J. H. The seeds of dicotyledons. Vol. 1. Cambridge. Cambridge University Press. 1976.
4. GAUBA, E. e PRYOR, L. D. Seed coat anatomy and taxonomy in *Eucalyptus*. I. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, 83(1):20-32. 1958.
5. GAUBA, E. e PRYOR, L. D. Seed coat anatomy and taxonomy in *Eucalyptus*. II. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, 84(2):278-291. 1959.
6. GAUBA, E. e PRYOR, L. D. Seed coat anatomy and taxonomy in *Eucalyptus*. III. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales 86(1):96-111. 1961.
7. JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. New York McGraw-Hill. 1940.
8. SASS, J. E. Botanical Microtechnique (2d. ed.). Ames, Iowa State College Press. 1951.
9. ZUCCONI, L. Organogenesi dei fiore ed embriologia in *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *Publicazioni del Centro di Sperimentazione Agricola e Forestale* 2:59-86. 1958.

## Reseña de libros

NILSON, S. Atlas of airborne fungal spores in Europe. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag 1983. 139 p (87 fotografías en microscopio electrónico y 10 figuras) Price \$ 53.40.

La ecología atmosférica cada vez despierta mayor interés en los especialistas, sobretudo por los problemas más dramáticos surgidos con la contaminación ambiental. Esto ha estimulado también las investigaciones sobre la población microbiana de significancia biológica, como contaminante del aire, especialmente las esporas de hongos. La población de estas en el aire en un momento determinado, es el resultado de procesos complejos, cada uno de los cuales es influenciado directa o indirectamente por factores externos principalmente climáticos que determinan la formación, liberación, transporte y deposición de las esporas. De ahí que es frecuente encontrar las mismas poblaciones de esporas de diferentes géneros de hongos, en un determinado ecosistema y lo que varía mayormente es la dinámica de esas poblaciones.

En los estudios epidemiológicos de interés fitopatológico de medición de poblaciones de esporas mediante trampas, los investigadores tienen dificultad para identificar visualmente las esporas, debido a que es más importante la conidiogénesis como criterio taxonómico. En unos pocos casos las esporas son reconocidas a nivel de especies.

De ahí la importancia de conocer los hongos localmente y tener buenas fotografías o figuras para comparación. En este sentido los atlas de esporas cumplen una función importante y el presente contiene descripciones e ilustraciones de esporas de 90 géneros-especies, tomadas tanto al microscopio corriente como electrónico de transmisión, presentes en ambientes especiales así como de hongos comunes en diversidad de ambientes de Europa.

El libro en su primera sección describe las características relevantes y ciclos de vida de las principales clases de hongos, así como definición de términos usados corrientemente en su taxonomía. Especial énfasis se hace en la ilustración de los diferentes tipos de conidiogénesis de hongos de la clase Deuteromycetes.

La terminología utilizada en la taxonomía de hongos es amplia y de difícil ubicación para el investigador en cuanto a su significado de ahí que el libro incluye un glosario de términos utilizados más frecuentemente en el texto. También contiene cuadros en los que se incluyen las esporas de hongos más frecuentes en diferentes microambientes.

El libro es de particular interés para aerobiólogos, fitopatólogos, micólogos, alergólogos o aquellos investigadores interesados en morfología de esporas.

EDGAR VARGAS G.  
ESCUELA DE FITOTECNIA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA