

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

MORFOLOGIA, ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DO FRUTO E SEMENTE

DE *MANIHOT CAERULESCENS* POHL. E *M. TRIPARTITA*

MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE)

JONATHAS HENRIQUE GEORG DE OLIVEIRA

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Biológicas (Botânica), AC: Morfologia e
Diversidade Vegetal**

BOTUCATU - SP

- 2007 -

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

MORFOLOGIA, ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DO FRUTO E SEMENTE

DE *MANIHOT CAERULESCENS* POHL. E *M. TRIPARTITA*

MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE)

JONATHAS HENRIQUE GEORG DE OLIVEIRA

PROF^a DR^a DENISE MARIA TROMBERT DE OLIVEIRA

ORIENTADORA

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Biológicas (Botânica), AC: Morfologia e
Diversidade Vegetal**

BOTUCATU - SP

- 2007 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Oliveira, Jonathas Henrique Georg de.

Morfologia, anatomia e desenvolvimento do fruto e semente de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) / Jonathas Henrique Georg de Oliveira. – Botucatu : [s.n.], 2007

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2007.

Orientadora: Denise Maria Trombert de Oliveira

Assunto CAPES: 20300000

1. Botânica 2. Anatomia vegetal 3. Morfologia vegetal

CDD 581.4

Palavras-chave: Euphorbiaceae; Estrutura; Fruto; *Manihot*; Semente

Dedicatória

Dedico este trabalho, à minha família: principalmente à minha mãe-avó Erica Georg (Iaiá), que dedicou grande parte de sua vida a mim e que Deus a levou para junto dele, deixando um vazio enorme em minha vida. Principalmente, quando descobriu o câncer eu falei a ela que iria se curar e ainda que assistiria minha defesa da dissertação. Infelizmente não deu; a vida continua. Meu pai-avô Wigando Georg, que fez tudo que podia e o que não podia por mim, e continua fazendo. A meus pais Eliana e Rosnei, que me deram o que tenho de mais importante, a vida. À minha esposa Máisa, que compartilha comigo, momentos bons e ruins e que tolera com muita tranquilidade meu mau humor, e me ajuda em tudo que preciso. Dedico ainda, este trabalho aos meus tios que sempre me trataram como irmão, em especial Vera, Jaime e Carlos. Assim, esta vitória é nossa.

Amo todos vocês!!!

Agradecimentos

A **Deus**, pela vida que me ofereceu e pela grande força que me foi concedida para superar a perda da minha mãe-avó (Iaiá), que foi o momento mais difícil da minha vida.

À **Profa. Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira**, pela sugestão do presente tema, pelos ensinamentos que me passou com prazer, mesmo aos sábados e outros dias fora do horário normal, e pela orientação da presente dissertação.

À **Profa. Dra. Sílvia Rodrigues Machado**, pelas sugestões dadas, pela amizade e pela participação na banca do exame geral de qualificação.

À **Profa. Dra. Adelita Aparecida Sartori Paoli**, pela cessão de material bibliográfico e participação na banca de defesa da presente dissertação.

Ao **Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza**, uma vez que foi ele quem teve que me “aturar” durante a graduação, como orientador, confiou em mim (no início, ele não confiava, achava que logo iria desistir do estágio) e me incentivou na pesquisa botânica, estimulando-me sempre buscar algo mais, inclusive a vir para Unesp. Muito prestativo e mais que isso, um grande amigo. Um agradecimento especial também pela participação na banca de defesa desta dissertação.

À **Dra. Inês Cordeiro**, pela identificação das espécies.

Ao Sr. **Clemente José Campos**, pelo auxílio nas coletas do material botânico e por tantas risadas que demos juntos.

Ao amigo e técnico do Laboratório de Morfologia Vegetal, **Kleber Alexandre Campos**, pela amizade, muita brincadeiras, risadas e, também, pelas vezes em que me auxiliava nas dúvidas.

Aos **funcionários da Seção de Pós-graduação, IBB, UNESP**, Serginho, Luciene e Maria Helena, os quais sempre me trataram com muito respeito, carinho e paciência.

Aos **funcionários da Biblioteca Central da UNESP**, Câmpus de Botucatu, pela elaboração da ficha catalográfica. E um agradecimento muito especial aos funcionários responsáveis pelo Empréstimo Entre Bibliotecas (EEB) e do Programa de Comutação Bibliográfica (Comut): Brás, Marlene e Malu. Se não fosse pelo empenho destas pessoas, muitos trabalhos não chegariam até minhas mãos e grande parte desta dissertação ficaria comprometida.

Aos meus **amigos** e a toda minha **família**, meu irmão Marcos e meus primos queridos, os quais não posso nomear pela extensão, mas saibam que todos vocês sempre fizeram parte dos meus pensamentos quando estive longe, para a elaboração desta dissertação.

Ao **CNPq**, por conceder a bolsa de estudos durante todo o período do mestrado.

E a todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e não estão citados acima, mas saibam que estarão guardados sempre em meu coração.

Um agradecimento especial à **minha esposa Máisa C. Iwazaki**, a qual sempre está do meu lado, nos bons e maus momentos, sempre me auxiliando, inclusive na confecção de algumas lâminas e, com paciência sempre me trata com muito carinho, atenção e respeito.

Agradecer, e um dia quem sabe, retribuir tudo que meu sogro **Mauro** e minha sogra **Márcia**, fizeram por mim.

Aos meus **pais, Rosney e Eliana**, os quais muitas vezes estiveram longe por obstáculos da vida, mas agora, cada vez os laços se estreitam mais.

Aos meus tios, **Vera, Carlos e Jaime**, que me consideram como irmão. O Jaime que até hoje é muito meu amigo, me ajuda sempre que pode, inclusive foi ele quem arrumou transporte para eu trazer minha mudança de Maringá para Botucatu.

Gostaria de agradecer especialmente a duas pessoas que sempre se privaram de muitas coisas para me dar um bom estudo, conforto e até mesmo algumas regalias, que não deram sequer para seus filhos. Essas pessoas são meus avós, **Wigando Georg** e **Erica Georg** (*in memoriam*) – a eles eu tenho certeza que nunca terei como retribuir. Se não fosse por vocês, eu não chegaria até aqui.

Muito obrigado a todos!!!

Sumário

	Páginas
Resumo	1
Abstract	2
Introdução geral	3
Revisão bibliográfica	8
1. Bioma cerrado	8
2. Frutos e sementes	9
3. A família Euphorbiaceae	10
3.1. Caracteres taxonômicos	11
3.2. Caracteres embriológicos	13
3.3. Caracteres anatômicos	14
Organização dos capítulos.....	21
Capítulo I – Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de <i>Manihot caerulescens</i> Pohl. e <i>M. tripartita</i> Müll. Arg. (Euphorbiaceae)	22
Resumo	24
Palavras-chave.....	24
Introdução	24
Material e métodos	26
Resultados	27
Estágio I.....	27
Estágio II.....	28
Estágio III.....	29
Estágio IV.....	30
Discussão	31
Agradecimentos	36
Referências bibliográficas	36
Figuras	40
Capítulo II – Morfoanatomia e ontogênese das sementes em desenvolvimento de <i>Manihot caerulescens</i> Pohl. e <i>M. tripartita</i> Müll. Arg. (Euphorbiaceae).....	47
Resumo	49
Palavras-chave.....	49
Introdução	49
Material e métodos	51
Resultados	52

Estrutura do óvulo.....	52
Semente em desenvolvimento.....	53
Semente em maturação.....	55
Discussão	57
Agradecimentos	61
Referências bibliográficas	61
Figuras	64
Considerações finais	70
Referências bibliográficas	71

OLIVEIRA, J.H.G. **MORFOLOGIA, ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DO FRUTO E SEMENTE DE *MANIHOT CAERULESCENS* POHL. E *M. TRIPARTITA* MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE). 2007. 74P. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.**

RESUMO – O presente trabalho descreve os aspectos estruturais e ontogenéticos dos frutos e sementes de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae, Crotonoideae), espécies arbustivas que ocorrem freqüentemente no cerrado *sensu lato*. Os objetivos deste trabalho são: descrever a morfologia, a anatomia e o desenvolvimento dos frutos e sementes de *M. caerulescens* e *M. tripartita*; identificar as estruturas relacionadas ao processo de deiscência dos frutos e à dispersão das sementes; e verificar a ocorrência de padrões estruturais comuns às espécies estudadas, comparando-as com as demais Euphorbiaceae registradas na literatura. Para tanto, foram adotados procedimentos usuais em Anatomia Vegetal. No estudo do pericarpo, foi possível o enquadramento em quatro estágios de desenvolvimento, típicos dos frutos secos: I – ovário; II – frutos bem jovens, com atividade meristemática acentuada; III – frutos jovens até seu tamanho definitivo, caracterizado pelo evidente alongamento celular; e IV – fase de amadurecimento e lignificação do estrato esclerenquimático. Verificou-se que, no estágio I, as duas espécies estudadas apresentam ovário típico de Euphorbiaceae, com algumas diferenças sutis entre elas, como, por exemplo, o aspecto anguloso de *M. caerulescens*, devido à presença de seis projeções longitudinais; em *M. tripartita*, são observados inúmeros tricomas tectores unicelulares e o ovário em secção transversal é mais circular. No estágio II, inicia-se a diferenciação de diversos feixes laterais no mesocarpo mediano; em sua porção mais interna, destaca-se um estrato de células alongadas tangencial e obliquamente. Divisões periclinais intensas indicam a presença de um meristema subadaxial, que forma o mesocarpo interno, e de um meristema adaxial, que produz o endocarpo de ambas as espécies. No estágio III, define-se o tamanho final dos frutos; a região mais interna do mesocarpo mediano e o mesocarpo interno diferenciam células que compõem o estrato esclerenquimático em *M. caerulescens*; em *M. tripartita*, além destas duas faixas de células esclerenquimáticas, a porção externa do endocarpo também se diferencia em esclerênquima. No estágio de maturação de ambas as espécies (estágio IV), ocorre lignificação do estrato esclerenquimático, produzindo fibroesclereídes gelatinosas e braquiesclereídes. Ocorre também o enrugamento das células delgadas do mesocarpo externo e mediano de *M. caerulescens* e a ruptura dos tecidos de separação em *M. tripartita*, promovendo a deiscência desta última. Verifica-se, portanto, que a primeira espécie produz cápsula indeiscente e a segunda forma cápsula septi-loculicida. Nas duas espécies, as sementes são elípticas, anátropas e albuminosas, ambas apresentando envoltório espesso, composto pelo exotégmen lignificado, pela endopaquicalaza e por remanescentes da testa; em *M. caerulescens*, o exotégmen chega a ser quatro vezes mais espesso que em *M. tripartita*. O endosperma tem formação mista, núcleo-celular, processo registrado pela primeira vez na literatura pelo presente trabalho; apresenta ampla reserva lipídica e protéica, esta constituída por grãos de aleurona. O embrião das duas espécies exibe as características típicas das Euphorbiaceae, com eixo hipocótilo-radícula curto e cônico, plúmula indiferenciada e cotilédones largos e foliáceos.

Palavras-chave: morfologia, anatomia, ontogênese, fruto, pericarpo, semente, *Manihot*.

OLIVEIRA, J.H.G. **MORPHOLOGY, ANATOMY AND DEVELOPMENT OF THE FRUIT AND SEED OF *MANIHOT CAERULESCENS* POHL. AND *M. TRIPARTITA* MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE).** 2007. 74p. M.SC. THESIS – BIOSCIENCES INSTITUTE, UNESP – SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

ABSTRACT – The present work describes structural and ontogenetic aspects of the fruits and seeds of *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae, Crotonoideae), shrub species that occur frequently in cerrado *sensu lato*. The aims of this work are: to describe the morphology, anatomy and development of the fruits and seeds of *M. caerulescens* and *M. tripartita*; to identify the structures related to the process of dehiscence of the fruits, and to seed dispersion; and to verify the occurrence of structural standards between the studied species, comparing with others Euphorbiaceae registered in the literature. For this, usual techniques in Plant Anatomy were adopted. In the study of pericarp, it was possible to define four development stages that are typical of dry fruits: I – ovary; II – very young fruits, with intensive meristematic activity; III – young fruits until their final size, characterized for evident cellular elongation; and IV – phase of maturity and lignification of the sclerenchymatous stratum. In the stage I, we verify that the two studied species present ovary structure typical of Euphorbiaceae, with some subtle differences between them, as, e.g., the angular aspect of *M. caerulescens*, due to the presence of six longitudinal projections; in *M. tripartita*, several unicellular non-glandular trichomes are observed, and the ovary has more circular transverse section. In stage II, it is initiated the differentiation of diverse lateral bundles in medium mesocarp; in its inner portion, a layer of tangential and obliquely elongated cells is distinguished. Intensive periclinal divisions indicate the presence of one subadaxial meristem, that forms the inner mesocarp, and of one adaxial meristem, that produces the endocarp of the both species. In stage III, the final size of the fruits is defined; the most inner region of medium mesocarp and the inner mesocarp differentiate cells that compose the sclerenchymatous stratum in *M. caerulescens*; in *M. tripartita*, beyond these two layers of sclerenchyma cells, the outer portion of endocarp also is differentiated in sclerenchyma. In the maturity stage of both species (stage IV), the lignification of the sclerenchymatous stratum occurs, producing gelatinous fiber-sclereids and stone cells. It also occurs the wrinkling of the thin cells of outer and medium mesocarp of *M. caerulescens* and the rupture of separation tissue in *M. tripartita*, promoting the dehiscence of this last one. We verified, therefore, that the first species produces indehiscent capsule and the second forms septi-loculicidal capsule. In the two species, the seeds are elliptical, anatropous and albuminous, both presenting thick seed coat, composed of lignified exotegmen, endopachychalaza and residues of the testa; in *M. caerulescens*, the exotegmen arrives to be four times thicker than in *M. tripartita*. Endosperm has mixed formation, nucleo-cellular, process registered for the first time in this work; it presents ample lipidic and proteinic reserve, this one consisted of aleurone grains. The embryo of the two species shows the typical features of the Euphorbiaceae, with short and conical embryonic axis, indifferenciated plumule, and wide and foliaceous cotyledons.

Key words: morphology, anatomy, ontogeny, fruit, pericarp, seed, *Manihot*.

Introdução

Cerrado é o nome dado à vegetação xeromorfa de arvoredos, comunidades arbustivas, savanas abertas e campos gramíneos do Brasil central (Eiten 1977). Este bioma abrange cerca de dois milhões de quilômetros quadrados, área aproximadamente igual à ocupada pela Europa Ocidental; representa aproximadamente 22% da superfície do Brasil, e ainda apresenta pequenas áreas dispersas ao leste da Bolívia e noroeste do Paraguai (Oliveira-Filho & Ratter 2002).

O cerrado ocorre, como área contínua, nos estados de Goiás, Tocantins, Distrito Federal, região oeste de Minas Gerais e da Bahia, leste do Mato Grosso e do Mato Grosso do Sul, além de uma área periférica, disjunta, que abrange parte da Amazônia, de vários estados nordestinos, além de São Paulo e uma reduzida porção do Paraná, atingindo até o leste do Paraguai (Eiten 1972, Ribeiro & Walter 1998).

No bioma cerrado, Euphorbiaceae está bem representada. Seus indivíduos apresentam-se sob a forma de árvores, arbustos, ervas e até mesmo trepadeiras, estando distribuídos em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo, principalmente na América e África (Barroso *et al.* 1991). De acordo com Souza & Lorenzi (2005), algumas espécies desta família podem, às vezes, ser afilas, semelhantes a cactáceas.

As inflorescências do grupo podem ser cimosas ou racemosas, às vezes reduzidas, formando uma estrutura semelhante a uma flor, o ciátio, como ocorre em *Euphorbia*, *Chamaesyce* e *Pedyanthus*. As flores não vistosas são unissexuadas, actinomorfas, aclamídeas ou monoclamídeas, raramente diclamídeas, às vezes envolvidas por brácteas vistosas. O fruto é geralmente uma cápsula com deiscência elástica (tricoca), raramente baga, drupa ou sâmara; as sementes são freqüentemente ariladas ou com carúncula (Souza & Lorenzi 2005).

A análise da literatura disponível a respeito de Euphorbiaceae revela que as informações sobre anatomia de órgãos vegetativos e reprodutivos são escassas, destacando-se as iniciativas de Graner (1935, 1942), Landes (1946), Singh (1954, 1969), Toledo (1963), Singh & Chopra (1970), Berg (1975), Mendonça (1983), Lagôa & Pereira (1989), Paoli *et al.* (1995), Tokuoka & Tobe (1998, 2002, 2003), Freitas *et al.* (2001) e Luchi (2004).

Outros trabalhos realizados referem-se aos estudos citogenéticos, evolutivos e, especialmente, ao melhoramento da produção da mandioca (*Manihot esculenta*), tais como Allem (1999) e Nassar (2000, 2001).

Uma característica que chama a atenção é que a maioria dos representantes de Euphorbiaceae produz látex, um fluido secretado por células especializadas conhecidas como laticíferos, considerado, por muitos autores, talvez a mais complexa de todas as secreções vegetais. Esta secreção é mais comumente branca e leitosa, mas pode ainda ocorrer sob uma forma mais clara, incolor, amarelada ou até mesmo alaranjada. Muito freqüentemente, o látex apresenta carboidratos, grãos de amido, ácidos orgânicos, alcalóides, terpenos, óleos, resina e borracha (Cutter 1986).

De acordo com Esau (1959), os laticíferos agrupam-se em duas classes principais, os articulados e os não-articulados. Os primeiros constam de séries longitudinais de células, cujas paredes celulares terminais ou laterais podem se desintegrar completamente, unindo as células vizinhas por anastomoses, como evidenciado nos gêneros *Hevea* e *Manihot*. Os laticíferos do tipo não-articulados formam-se a partir de células individuais que têm a capacidade de crescer muito, originando estruturas tubulares e muito alongadas, às vezes ramificadas, não anastomosadas com outras células, como ocorre em *Euphorbia*.

Muitas espécies de *Manihot* foram levadas para os continentes asiático e africano, principalmente para a Malásia e Índia, em consideração ao seu potencial para a extração da borracha contida no látex. Entre as espécies que contribuíram consideravelmente para a exportação da borracha está *M. caerulescens* (Mendonça 1983).

Outra característica marcante da família é a presença de carúncula e de obturador. Para Corner (1976), a carúncula é um corpo rijo que se situa sobre a micrópila, apresentando leve semelhança com o arilo carnoso micropilar. O autor considera, ainda, a carúncula como um arilo vestigial, homólogo ao arilo de Bombacaceae e Sterculiaceae, famílias que apresentam arilos micropilares.

A carúncula pode ainda ser denominada elaiossomo, termo ecológico proposto por Sernander (1906), que indica uma parte da semente que é carnosa e comestível capaz de atrair formigas, facilitando assim a dispersão por mirmecocoria.

Segundo Werker (1997), a carúncula desenvolve-se após a fecundação, não devendo assim ser confundida com o obturador, o qual é formado antes. Segundo a autora, no óvulo maduro, o funículo geralmente tem a função de orientar o tubo polínico em direção à micrópila, por vezes havendo um tecido secretor especializado, o obturador.

Corner (1976) e Rao & Rao (1976) mostraram que, em óvulos de Euphorbiaceae, uma projeção do nucelo atravessa a micrópila e alcança o obturador. Este evento, porém, não é exclusivo de Euphorbiaceae, ocorrendo também em outras Malpighiales, como, por exemplo, em Malpighiaceae (Corner 1976).

As sementes de Euphorbiaceae são exotégmicas, isto é, o exotégmen constitui a camada mecânica do tegumento da semente madura. Em alguns gêneros, como *Ricinus*, *Manihot* e *Hevea*, a camada mecânica apresenta-se sob a forma de células malpighianas alongadas anticlinalmente, com pontoações simples, às vezes apresentando uma curvatura e exibindo paredes bem espessas; em outros gêneros, como *Actephila*, *Baccaurea*, *Drypetes* e *Phyllanthus*, o exotégmen pode ser constituído por um estrato de células longitudinais esclerificadas, uma camada de fibras, esclereídes cubóides ou uma pequena paliçada (Corner 1976).

Dentre as Euphorbiaceae, ocorrem muitas plantas reconhecidas pelo grande interesse econômico, tais como *Manihot esculenta*, *Hevea brasiliensis*, *Ricinus communis*, além de numerosas espécies ornamentais (Souza & Lorenzi 2005).

Manihot esculenta, conhecida por diferentes nomes de acordo com a região do Brasil (mandioca, aipim, macaxeira), forma raízes tuberosas que são importante fonte de amido nas regiões tropicais (Judd *et al.* 1999). Esta planta é a base alimentar de muitas regiões do Brasil, sendo amplamente consumida na região amazônica. Além de ser utilizada na alimentação sob a forma de farinha, polvilho, tapioca, entre outros, ela pode ter outras utilidades, como a fabricação de uma aguardente chamada tiquira, e até mesmo a extração de álcool, havendo registro de que sua produtividade é bem maior que a da cana-de-açúcar: de uma tonelada da cana, obtêm-se 70 litros do álcool e, da mandioca, obtêm-se impressionantes 190 litros (Smith *et al.* 1988).

Segundo Tokarnia *et al.* (1979), *Manihot* abriga diversas espécies que pertencem ao grupo das plantas cianogênicas, assim denominadas em função da ação de enzimas ou de ácidos minerais diluídos, os quais formam o ácido cianídrico (HCN), que é uma das substâncias mais tóxicas que se conhece.

Hevea brasiliensis, espécie popularmente conhecida como seringueira, é nativa da região amazônica. Foi responsável por um dos ciclos econômicos do país, o ciclo da borracha, até que suas sementes foram levadas para a Ásia, dando origem a plantios que inviabilizaram economicamente a exploração por extrativismo que ocorria no Brasil (Souza & Lorenzi 2005).

Ricinus communis é uma espécie invasora proveniente da África, conhecida popularmente como mamona, a qual se adaptou muito bem ao clima do Brasil. É encontrada em todas as regiões do país, sendo a espécie responsável pela produção do óleo de rícino (Souza & Lorenzi 2005). Hoje em dia, sua cultura está em alta devido à sua utilização na fabricação do biodiesel.

Segundo Souza & Lorenzi (2005), muitas outras plantas pertencentes à família podem ser utilizadas como ornamentais; como possuem flores não vistosas, o aspecto ornamental é dado por brácteas ou pela própria folhagem, como é o caso de: *Euphorbia milii* (coroa-de-cristo), utilizada como cerca viva; *Euphorbia pulcherrima* (bico-de-papagaio); *Euphorbia cotinifolia* (caracasana) com folhas vermelho-vináceas de belo efeito ornamental; *Pedilanthus tithymaloides* (pedilanto), espécie nativa da Amazônia; já no caso de *Acalypha* spp. (rabo-de-gato), o aspecto ornamental é dado pelos estigmas ramificados.

Para o presente trabalho, foram escolhidas *Manihot caerulescens* e *M. tripartita*, espécies de Euphorbiaceae frequentes em fisionomias campestres de cerrado, cerrado típico e, eventualmente, em cerradão, comuns na região de Botucatu, estado de São Paulo.

Manihot caerulescens, conhecida popularmente como mandioca-brava, é um arbusto com ramos glabros de folhas simples, alternas, digitadas, longo-pecioladas, geralmente cinco ou, às vezes, três lobos oblongo-elípticos, com base atenuada e ápice obtuso ou arredondado, cerca de 7 cm de comprimento e 4 cm de largura. Suas flores são unissexuais, albo-esverdeadas e agrupadas em inflorescências axilares. O fruto é uma cápsula ovóide, trilocular, amarela, glabra, com cerca de 3 cm de comprimento (Durigan *et al.* 2004).



Também conhecida como mandioca-brava, *Manihot tripartita* é um arbusto com folhas simples, alternas, digitadas, longo-pecioladas, geralmente trilobadas, com lobos oblongo-obovados, ápice obtuso, pilosas em ambas as faces, atingindo cerca de 7 cm de comprimento e 3 cm de largura. As flores também têm sexos separados e são esverdeadas, reunidas em inflorescências axilares e terminais. O fruto é uma cápsula elipsóide trilocular e pubescente (Durigan *et al.* 2004).

Mendonça (1983) estudou os aspectos anatômicos e a distribuição dos laticíferos nos órgãos vegetativos de *M. caerulescens*, registrando-os como articulados e não-ramificados. Dada a grande quantidade de laticíferos, esta espécie já foi, inclusive, utilizada para a exploração da borracha presente no látex. Houve até mesmo incentivo por parte do

governo para que produtores fizessem plantios e replantios da espécie. Sua exploração data do século passado, cessando a partir de 1972, devido à desvalorização do coágulo por sua baixa qualidade, ligada provavelmente à técnica de extração que permitia a presença de impurezas.

Tendo em vista a importância dos estudos de órgãos reprodutivos para o entendimento das plantas e considerando a carência de estudos relacionados às Euphorbiaceae, os objetivos deste trabalho foram: descrever a morfologia, a anatomia e o desenvolvimento dos frutos e sementes de *M. caerulescens* e *M. tripartita*; identificar as estruturas relacionadas ao processo de deiscência dos frutos e à dispersão das sementes; verificar a ocorrência de padrões estruturais comuns às espécies estudadas e às demais Euphorbiaceae registradas na literatura.

Revisão bibliográfica

A presente revisão bibliográfica foi realizada principalmente com enfoque no bioma cerrado, nos frutos e sementes de uma maneira em geral e, especialmente, nas Euphorbiaceae, destacando principalmente os caracteres taxonômicos, embriológicos e anatômicos do grupo.

1. *Bioma cerrado*

De acordo com Coutinho (2002), no início do século XIX o cerrado no estado de São Paulo ocupava uma área de aproximadamente 18% da superfície. Nos dias atuais, o bioma está representado por pequenos fragmentos espalhados pelo estado e ocupa pouco mais de 1% da superfície.

Uma questão que tem gerado muitos debates nos últimos tempos é se os cerrados são formações antropogênicas ou naturais. O fato é que cerrados e florestas podem ocorrer na mesma região, na mesma latitude e, até mesmo, sob as mesmas condições climáticas. Estas observações geraram duas hipóteses sobre a sua origem. A primeira delas versa sobre a origem da vegetação do cerrado pela ação humana e está baseada nas observações de espécies adaptadas ao fogo, a qual sugere que este bioma poderia ter resultado do desenvolvimento de florestas sob a influência do fogo. A segunda hipótese favorece a origem natural dos cerrados, baseando-se na ocorrência desta vegetação apenas em áreas recentemente colonizadas pelo homem e também no descobrimento de grandes mamíferos, já extintos, vivendo em terras de florestas no final do Pleistoceno (Ledru 2002).

Coutinho (2002) relatou que a vegetação do cerrado não apresenta uma fisionomia única em toda a sua extensão; ela é bastante diversificada, apresentando desde formas campestres bem abertas, como os campos limpos, até formas relativamente densas, florestais, como os cerradões. Porém, entre estes dois extremos de fisionomias vegetais, encontram-se várias formas intermediárias, como os campos sujos.

Estas fisionomias são determinadas por manchas de solo mais ou menos pobres, bem como pela irregularidade dos regimes e características de queimadas de cada local. Assim, embora o bioma do cerrado distribua-se predominantemente em áreas de clima tropical sazonal, os fatores que aí limitam a vegetação são outros, tais como, a fertilidade do solo e o fogo (Coutinho 2002).

Segundo Joly (1970), não importa a causa do fogo, a realidade é que a maioria das plantas que habita o cerrado está adaptada a resistir aos incêndios periódicos.

Segundo Klink (1996), o cerrado é formado por uma enorme diversidade de espécies, sendo por isso considerado como a flora mais rica entre as savanas mundiais.

Levantamentos recentes indicam a ocorrência de um total de 6.062 espécies distribuídas em 151 famílias de Angiospermas neste bioma. As principais famílias representadas no cerrado são Fabaceae, seguida de Asteraceae, Orchidaceae, Poaceae, Rubiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae e Lythraceae (Mendonça *et al.* 1998).

Coutinho (2002) afirmou que o clima predominante neste bioma é o tropical sazonal de inverno seco, onde a temperatura média anual fica entre 22 e 23° C, e a precipitação entre 1.200 a 1.800 mm.

Constata-se, também, que embora muitas das adaptações estruturais das plantas de cerrado sejam conhecidas, as informações são limitadas a poucas espécies. Muitos dos aspectos da morfologia e anatomia da maioria dos representantes do cerrado são desconhecidos frente à riqueza e diversidade desta formação. Estudos morfológicos e anatômicos a respeito dos frutos e sementes das plantas de cerrado são ainda mais escassos; embora iniciativas recentes com plantas do cerrado paulista venham mudando gradualmente este panorama, grandes lacunas persistem, como é o caso das Euphorbiaceae, oitava família mais bem representada no cerrado.

2. Frutos e sementes

Os frutos e sementes têm sido objetos de estudo de muitos pesquisadores pelo mundo, resultando em amplas publicações como as de Martin (1946), Corner (1976), Roth (1977), Spjut (1994), Werker (1997), Barroso *et al.* (1999), dentre muitos outros autores.

Dos trabalhos referidos, o mais amplo realizado com frutos é o de Roth (1977), no qual a autora estudou a anatomia dos frutos das Angiospermas em geral, explicitando conceitos e definições, classificações em geral, tecidos que compõem o pericarpo juntamente com partes extraflorais, tipos de deiscência, tipos de frutos, abscisão e mecanismos de dispersão. Descreveu, ainda, alguns dos frutos mais comuns, com base em dados originais e extensa revisão de literatura.

Spjut (1994), estudando a morfologia e classificações já tradicionais de frutos, apresentou um trabalho de cunho sistemático. Desse modo, o autor propôs vários tipos de frutos, com suas respectivas descrições e ilustrações.

Barroso *et al.* (1999) publicaram uma grande obra sobre a morfologia de frutos e sementes, aplicada à sistemática de dicotiledôneas, trazendo chaves de identificação e

apresentando classificações dos mesmos, por meio de descrições e ilustrações muito bem feitas. Os autores relataram que os frutos de Euphorbiaceae podem ser agrupados em quatro tipos: esquizocarpáceos, capsulídeos, drupóides ou bacóides.

Muitos também são os autores que se interessaram pelo estudo morfológico e anatômico das sementes, produzindo amplas obras de referência.

Para Martin (1946), a morfologia interna das sementes não deve ser deixada de lado, devendo estar associada à morfologia externa. O autor estudou 1.287 gêneros de 155 famílias de Angiospermas, promovendo uma classificação ampla com base na proporção dos embriões em relação ao endosperma, bem como nas diferenças de forma e posição do embrião no interior da semente.

Corner (1976), em sua extensa análise sobre sementes de dicotiledôneas, apresentou um estudo envolvendo 234 famílias, no qual descreveu as características gerais dos tegumentos, embrião e endosperma de quase todas elas. No referido trabalho, o autor analisou aproximadamente 70 espécies reunidas em 41 gêneros de Euphorbiaceae, relatando que pode haver um ou dois óvulos por lóculo, os quais, além de apresentarem obturador, são anátropos, bitegmentados e crassinucelados.

Werker (1997) publicou uma obra em que trata de vários assuntos referentes às sementes, analisando sua morfologia, superfície, modo de desidratação e abscisão, características dos tegumentos, embrião, tecidos nutritivos, mecanismos de dormência e, por fim, dispersão e germinação das sementes.

3. A família *Euphorbiaceae*

Embora as referências ainda sejam escassas, diversos pesquisadores se dedicaram ao estudo das Euphorbiaceae.

Rogers & Appan (1973) relataram que Bauhin, um botânico europeu, em 1651, foi quem primeiro reconheceu e descreveu o epíteto genérico *Manihot*, quando estudou plantas coletadas por um amigo aqui no Brasil. Segundo os referidos autores, quase cem anos depois, em 1753, Linnaeus organizou as espécies conhecidas por *Manihot* num outro gênero, *Jatropha*, causando grande confusão na nomenclatura; estes dois gêneros foram, porém, claramente separados pelo perianto, já que *Manihot* possui apenas um verticilo e *Jatropha* apresenta os dois.

Segundo informaram Rogers & Appan (1973), a primeira descrição válida para *Manihot* foi feita por Müller no ano de 1754, mas só a partir de 1763 ele foi reconhecido como autor do gênero. No ano de 1766, este mesmo autor publicou um livro sobre *Manihot*,

estabelecendo 43 novas espécies. Três anos mais tarde, em 1766, Crantz publicou um trabalho sobre mandioca, sob a denominação de *M. esculenta*. Em 1827, Pohl dividiu a espécie *M. esculenta* em duas novas espécies, *M. utilissima* e *M. aipi*, de acordo com a concentração de ácido cianídrico que elas continham, sendo *M. utilissima* a espécie que apresentava altas concentrações do ácido. Esta é, contudo, apenas uma divisão cultural e com base química, não apresentando um grande valor taxonômico (Ciferri 1938).

Rogers & Appan (1973) publicaram uma monografia bastante completa sobre o gênero *Manihot*, baseando-se em estudos biossistemáticos, além de caracteres morfológicos, e destacaram que a taxonomia tradicional não deve ser abandonada para este gênero, especialmente em relação aos caracteres vegetativos. Os autores reconheceram, além de *M. esculenta*, outras 97 espécies distribuídas em 19 seções.

Escrevendo sobre a Flora da Serra do Cipó, Cordeiro (1992) apresentou os caracteres gerais de Euphorbiaceae, incluindo chaves para gêneros e espécies. Nesta família, segundo a autora, podem ocorrer árvores, arbustos, subarbustos ou ervas. As plantas possuem inflorescências racemosas ou cimosas; as flores são diclinas, actinomorfas, geralmente monoclamídeas; o gineceu é sincárpico, freqüentemente com três carpelos, com ovário geralmente tricarpelar e placentação axial; ocorrem um ou dois óvulos anátropos ou raramente hemítropos, pêndulos em cada lóculo, os quais são bitegmentados, crassinucelados e providos de obturador placentário.

Ainda segundo Cordeiro (1992), o fruto das Euphorbiaceae é, na maioria dos casos, uma cápsula com deiscência explosiva, que pode ser septicida, septicida-loculicida ou loculicida; mais raramente, encontram-se frutos drupáceos, bacáceos ou samaróides. As sementes são, em geral, carunculadas, com tegumentos membranáceos, carnosos ou pétreos; o endosperma é usualmente presente e o embrião, na maioria das vezes, é reto, com eixo hipocótilo-radícula cônico, dois cotilédones planos, arredondados e foliáceos.

3.1. Caracteres taxonômicos

De acordo com Barroso *et al.* (1991), existem cerca de 290 gêneros e 7500 espécies de Euphorbiaceae, espalhadas por todas as regiões tropicais do mundo, sendo que no Brasil ocorrem aproximadamente 72 gêneros e 1100 espécies.

Em seu extenso trabalho, Webster (1994) dividiu Euphorbiaceae em cinco subfamílias, 49 tribos e 317 gêneros. O autor ainda apresenta chaves para as subfamílias, tribos, subtribos e gêneros. Além disso, cada subfamília é descrita com as respectivas subdivisões. De acordo com o referido autor, são características comuns às cinco subfamílias:

lâminas foliares semelhantes (simples, inteiras ou lobadas, ou folhas compostas), presença ou ausência de sépalas ou pétalas, frutos na maioria das vezes capsulares (raramente indeiscentes, drupáceos, bacóides ou samaróides), sementes carunculadas ou não, estames variando de dois a muitos, com filetes livres ou conatos.

A subfamília Phyllanthoideae é caracterizada por apresentar: inflorescências axilares, geralmente de dois a cinco carpelos, estiletos geralmente livres, dois óvulos anátropos ou hemítropos por lóculo, nucelo projetado além dos tegumentos, endosperma presente ou ausente, cotilédones planos. O número de cromossomos é de 12 ou 13. Este grupo compreende gêneros como *Savia*, *Blotia*, *Actephila*, *Glochidion* e *Phyllanthus* (Webster 1994).

Para a subfamília Oldfieldioideae, o autor mencionou as seguintes características: inflorescências axilares, flores apétalas, ovário com dois a cinco lóculos, dois óvulos por lóculo, sementes carunculadas, endosperma geralmente abundante, como em *Micrantheum*, *Celaenodendron*, *Oldfieldia*, por exemplo. Esta subfamília apresenta 28 gêneros e 100 espécies.

Ainda conforme apontado por Webster (1994), Acalyphoideae apresenta inflorescências axilares ou terminais, ovário variando de dois a quatro lóculos, estiletos inteiros, bífidos a multífidos, óvulos anátropos e únicos em cada lóculo, testa às vezes carnosa, endosperma freqüentemente abundante, cotilédones grandes e largos, e ausência de látex. O número de cromossomos é de nove, dez ou 11; compreende os gêneros *Acalypha*, *Alchornea*, *Ricinus* e *Tragia*, entre outros. Esta subfamília está subdividida em 116 gêneros e 20 tribos.

Para a subfamília Crotonoideae, o autor descreveu: inflorescências axilares ou terminais, sépalas sempre presentes, ovário geralmente com três lóculos, estiletos bífidos a multífidos, óvulos anátropos e exclusivamente únicos em cada lóculo, endosperma abundante, látex não leitoso ou ausente. É o que ocorre com os gêneros *Aleurites*, *Cnidoscolus*, *Croton*, *Jatropha* e *Manihot*, por exemplo. Esta subfamília apresenta 65 gêneros distribuídos em 12 tribos e se enquadram as espécies selecionadas para o presente trabalho, inseridas na tribo Manihoteae, a qual apresenta somente dois gêneros, *Cnidoscolus* e *Manihot*.

Finalmente, para a última subfamília, Euphorbioideae, Webster (1994) relatou: inflorescências terminais ou axilares, flores apétalas, ovário com dois ou três lóculos, testa seca ou carnosa, endosperma abundante, látex geralmente leitoso ou ausente. Estas características ocorrem em *Euphorbia*, *Hippomane*, *Hura*, *Sapium* e *Stillingia*, entre outros. Esta subfamília apresenta cinco tribos.

Segundo APG II (2003), Euphorbiaceae está inserida em Malpighiales, e é subdividida somente em três subfamílias, as quais possuem somente um único óvulo por lóculo, sendo elas Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae. Deste modo, as duas outras subfamílias (Phyllanthoideae e Oldfieldioideae), que apresentam dois óvulos por lóculo, foram reamostradas, respectivamente, em Phyllanthaceae e Picrodendraceae.

3.2. Caracteres embriológicos

Kapil & Bhatnagar (1994), no trabalho intitulado “The contribution of embryology to the systematics of the Euphorbiaceae”, afirmaram que, devido à grande variabilidade de caracteres vegetativos e florais, a família tem sido descrita como heterogênea e altamente diversificada. Os autores relataram que uma classificação natural ou filogenética não pode levar em conta somente características morfológicas, uma vez que estes caracteres são freqüentemente alterados em função de estresse ambiental; com isso, tais caracteres falham no verdadeiro reflexo das tendências filéticas. Estudos embriológicos têm sido considerados ferramentas importantes para a sistemática. De acordo com os autores, os caracteres embriológicos são úteis em determinações de limites de táxons, especialmente ao nível de ordem e família, indicando afinidades quando duas ou mais possibilidades são suspeitas, e por fim, tornando os sistemas de classificação mais completos.

Como a família é muito grande, estudos desta natureza ainda são escassos; apenas 16 das 49 tribos e aproximadamente 30 gêneros foram detalhadamente investigados (Kapil & Bhatnagar 1994). Para estes autores, os principais caracteres embriológicos observados no grupo são: anteras tetrasporangiadas, com a presença de endotécio com espessamento fibroso; tapete secretor com dois ou muitos núcleos por célula; ovários tricarpelares, sincárpicos e triloculares; dois óvulos por lóculo, em Phyllanthoideae e Oldfieldioideae, ou um único óvulo, em Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae; óvulos com placentação axial, bitegmentados, crassinucelados, com a vascularização funicular terminando na calaza ou penetrando nos tegumentos; presença de obturador placentário e de hipóstase; endosperma do tipo nuclear, com reserva oleaginosa ou amilácea; embrião grande com cotilédones foliáceos; exotégmen como a camada mecânica; e, por fim, uma carúncula proveniente de divisões do tegumento externo.

Ainda conforme apontado por Kapil & Bhatnagar (1994), outras características embriológicas (*sensu lato*) também são importantes, tais como a presença de obturador e a existência de projeção do nucelo. Muitos membros de Euphorbiaceae têm nucelo bem desenvolvido, formando uma projeção cônica, a qual atravessa a micrópila e fica em contato

direto com o obturador. Esta projeção é formada por divisões de células fundamentais da região apical do nucelo. Ambos, obturador e projeção do nucelo, estão supostamente envolvidos com a nutrição do tubo polínico, bem como com a ação de guiá-lo em direção ao megagametofito. Por fim, outra característica relevante é a presença da carúncula em alguns membros de Euphorbiaceae, em que a região apical do tegumento externo prolifera após a fecundação e produz esta estrutura carnosa ao redor da micrópila.

Uma das funções da carúncula é a dispersão das sementes por meio de formigas, mas a estrutura pode estar relacionada também à deiscência explosiva dos frutos e, ainda, facilitar o processo da germinação pela absorção de água (Kapil & Bhatnagar 1994, Lisci *et al.* 1996).

Tokuoka & Tobe (1995), no trabalho intitulado “Embriologia e sistemática de Euphorbiaceae: revisão e perspectiva”, obtiveram resultados que corroboraram o exposto por Kapil & Bhatnagar (1994), afirmando que muitos caracteres embriológicos em Euphorbiaceae são constantes, como: anteras tetrasporangiadas; endotécio com espessamentos fibrosos; camada média transitória (efêmera); óvulos bitegmentados, anátropos e crassinucelados, raramente hemítropos; formação de obturador; hipóstase diferenciada; antípodas também efêmeras; formação de endosperma do tipo nuclear e sua persistência na semente madura sob a forma celular; tegumento da semente madura formado principalmente pelo exotégmen. Por outro lado, muitos outros caracteres embriológicos variam dentro da mesma subfamília ou tribo e, algumas vezes, até no mesmo gênero. Tais caracteres são: o número de células no pólen maduro, a presença ou ausência da projeção do nucelo e o modo de formação do saco embrionário.

3.3. Caracteres anatômicos

A literatura referente a caracteres anatômicos de órgãos vegetativos de Euphorbiaceae é escassa, destacando-se os trabalhos de Mendonça (1983), Paoli *et al.* (1995), Freitas *et al.* (2001) e Luchi (2004).

Com relação aos estudos de órgãos reprodutivos de Euphorbiaceae, existem alguns que merecem atenção especial. Graner (1935), estudando a citologia da mandioca (*M. esculenta*), observou que, pouco acima da inserção do óvulo, na placenta, desenvolve-se o tecido obturador, característico das Euphorbiaceae. O óvulo aparece como uma protuberância ereta, arredondada, levantando-se da placenta; esta protuberância logo se torna apontada e o crescimento, mais rápido de um dos lados, faz com que o óvulo que se inicia ortótropo, torne-

se anátropo. À medida que o nucelo começa a se desenvolver, o tecido obturador surge da placenta, crescendo em direção ao óvulo e passando a ter estreita relação com o nucelo.

Ainda segundo análises de Graner (1935), num óvulo bem desenvolvido, o obturador adquire proporções avantajadas e penetra pela micrópila, servindo de condução e nutrição ao tubo polínico, chegando até a região onde se encontra o saco embrionário. O autor ainda descreve o desenvolvimento do saco embrionário que, seguindo seu curso normal, apresenta oito núcleos. O autor, além de tudo, avaliou o número cromossômico das 37 variedades de mandioca estudadas, encontrando $2n = 36$ para todas elas.

O florescimento e a frutificação da mandioca foram estudados por Graner (1942), que considerou que se conhece muito pouco a esse respeito, devido à propagação da mandioca ser feita por meio vegetativo. O autor verificou que os dois sexos se encontram separados em diferentes flores, numa mesma planta; são flores apétalas, e a flor masculina mede cerca de dois terços da flor feminina; existem dez estames sendo cinco mais longos que os demais.

A flor feminina da mandioca é como a masculina, envolvida somente pelas sépalas; tem o ovário na parte central, com três carpelos e estigma séssil. O número de flores femininas por inflorescência é exageradamente menor do que as masculinas, em torno de seis para 50. Na mandioca, verifica-se protoginia bastante acentuada e, quando as flores masculinas começam a se abrir, as femininas não apresentam mais estigma receptivo (Graner 1942).

O desenvolvimento das sementes de *Acalypha rhomboidea* foi estudado por Landes (1946), que descreveu que o ovário é trilocular com um único óvulo anátropo por lóculo; por meio de divisões de células do nucelo localizadas próximas à micrópila, forma-se uma projeção de cerca de cinco células de comprimento, as quais ficam em contato com o obturador, o qual surge da placenta e fica como um capuz ao redor da projeção nucelar. O óvulo é bitegumentado, com aproximadamente três camadas de células em cada tegumento.

Segundo o estudo de Landes (1946), após a fecundação, cessa o crescimento do obturador. Do ápice do tegumento externo desenvolve-se uma estrutura relativamente massiva, a carúncula. O exotégmen torna-se a camada mecânica da semente, e o endotégmen acumula um material granular e também apresenta certo espessamento parietal. Na extremidade do feixe calazal, algumas células mostram-se também com conteúdo granular, levemente diferente das demais, aspecto que desaparece durante o desenvolvimento da semente; esta região foi identificada pela autora como hipóstase. Foram observados 21 pares de cromossomos em *Acalypha rhomboidea*.

No embrião dessa espécie, o epicótilo fica entre os cotilédones largos e foliáceos; o tecido vascular é bem definido no hipocótilo, ramificando-se e penetrando nos cotilédones. O endosperma nuclear cresce, torna-se celular e mostra reservas que não são mencionadas pela autora. A maioria das células nucelares é comprimida, exceto na região da calaza e da projeção do nucelo. Os feixes vasculares terminam em um número pequeno de ramos na calaza. A autora relatou que, exceto pelo aumento de tamanho, existe uma pequena diferença do óvulo para a semente madura com os cotilédones já diferenciados. Em sua conclusão, a Landes (1946) afirmou que a hipóstase em *Acalypha rhomboidea* aparece quando o embrião ainda está sob a forma esférica e persiste na semente madura como uma camada comprimida.

Singh (1954), estudando o desenvolvimento das sementes de *Ricinus communis*, observou um óvulo anátropo, bitegmentado, presente em cada lóculo do ovário tricarpelar e trilocular. Durante a ontogênese, o tegumento externo surge primeiro e depois o interno. O autor descreve que a micrópila é formada por ambos os tegumentos, contudo o endóstoma e o exóstoma não ficam em linha reta. Nesta espécie, o nucelo nunca se projeta além do tegumento interno. A epiderme interna dos tegumentos externo e interno são formadas por células mais ou menos isodiamétricas com núcleos em posição central. As células do mesofilo são parenquimáticas e vacuoladas em ambos os tegumentos. O obturador, formado pelo crescimento da placenta, é bem desenvolvido; pequena porção dele penetra na micrópila, como também observado por Graner (1935) para *Manihot esculenta*.

Com relação à vascularização do óvulo de *R. communis*, Singh (1954) relatou que o feixe vascular da placenta vai em direção ao funículo, passando pela rafe e penetrando na calaza, onde se ramifica e forma um anel no tegumento interno. O endosperma é do tipo nuclear, depois torna-se celularizado. O exotégmen exibe um alongamento anticlinal e, em seguida, torna-se espessado e oblíquo; esta camada mecânica permanece descontínua na região calazal por onde o feixe rafeal penetra na calaza. A mudança mais significativa na testa é o alongamento anticlinal da endotesta. Por fim, a carúncula é formada por divisões do tegumento externo próximo à micrópila. Segundo o autor, a ativa proliferação da região calazal é responsável pelo crescimento da semente.

Toledo (1963), no trabalho intitulado “Anatomia e desenvolvimento ontogenético do fruto e semente de mandioca”, descreveu o fruto como uma cápsula globosa com 15 mm de diâmetro, marrom-acinzentado, rugoso, tricoca, com cocas bivalvas e monospermas. As sementes são pequenas, oval-elípticas, lisas e marmoreadas apresentando cerca de 10 mm de comprimento. No fruto verde, as três camadas do pericarpo já estão bem definidas, o exocarpo apresenta-se com células poligonais, sem tricomas e com numerosos estômatos; o mesocarpo

parenquimático apresenta laticíferos principalmente associados ao floema, notando-se também a presença de drusas. Ao redor de cada lóculo do fruto maduro, a autora descreveu o endocarpo, constituído por três estratos de esclereídes de formas e dimensões variáveis, dispostas em diferentes direções.

Segundo Toledo (1963), a deiscência do fruto maduro da mandioca ocorre a partir da secagem do parênquima do mesocarpo, isolando um carpelo de cada lado do eixo placentário; ao mesmo tempo, cada lóculo, devido à disposição das fibras, abre-se do ápice à base. A autora afirmou que, quando a célula-mãe do megasporo se divide em duas, os tegumentos já estão completamente diferenciados. O obturador, produzido por uma intumescência da placenta, mantém estreita relação com o nucelo e atua na condução do tubo polínico. As observações feitas pela autora são semelhantes às realizadas por Landes (1946) e Singh (1954), para espécies de outros gêneros de Euphorbiaceae, ou seja: o exotégmen alonga-se radialmente, espessa-se e, por fim, torna-se oblíquo; o endosperma é do tipo nuclear; a carúncula desenvolve-se por divisões de células do tegumento externo próximo à micrópila e a ampla proliferação da região calazal e das células do tegumento interno é responsável pelo crescimento da semente.

Em um estudo realizado sobre a estrutura e desenvolvimento das sementes de *Euphorbia helioscopia*, Singh (1969) encontrou resultados bem semelhantes dos apresentados para *Ricinus communis* (Singh 1954), ocorrendo a presença de ovário tricarpelar e trilocular, abrigando, em cada lóculo, um único óvulo anátropo e bitegumentado. Também em *E. helioscopia*, as células do obturador penetram na micrópila crescendo consideravelmente.

De acordo com Singh (1969), o tegumento interno de *E. helioscopia* possui mais camadas de células que o externo. O endosperma é do tipo nuclear e torna-se celular com o desenvolvimento, ocupando uma grande área dentro da semente madura. O autor afirmou que o endosperma acumula reservas, porém não relatou de que natureza. Também nesta espécie, o embrião é diferenciado em eixo hipocótilo-radícula, dois largos cotilédones e um epicótilo; laticíferos foram encontrados mesmo no embrião. Nesta espécie, a camada mecânica também é o exotégmen, composto por células que apresentam alongamento radial e curvatura, e que mostram espessamento das paredes. Em relação ao tegumento externo, é deste que a carúncula deriva; o autor descreveu que a carúncula é formada por parênquima recoberto por uma camada de células epidérmicas alongadas radialmente. O tegumento da semente madura é formado pela testa e pelo tégmen (Singh 1954).

A estrutura e o desenvolvimento das sementes de *Croton bonplandianum*, analisados por Singh & Chopra (1970), confirmaram que o embrião é diferenciado em dois

cotilédones largos, eixo hipocótilo-radícula e epicótilo, assim como encontrado anteriormente por Landes (1946) e Singh (1969) para outras Euphorbiaceae. Em *C. bonplandianum*, a parte superior da calaza mostra aumento em tamanho e a presença de um pequeno grupo de células amarronzadas, comparáveis a uma hipóstase, distinguível ao redor do ponto de bifurcação do feixe rafeal, corroborando com o relato de Landes (1946) para *Acalypha rhomboidea*. No tégmen, os autores destacaram que o exotégmen torna-se alongado anticlinalmente, espesso e oblíquo e, na semente madura, estas macrosclereídes tornam-se marrom-escuras e formam o característico tegumento pétreo. Na testa, a mudança que mais merece destaque é o alongamento anticlinal da camada mais interna (endotesta). Geralmente, todas as células da mesotesta ficam comprimidas na semente madura. A carúncula é iniciada por divisões de células da epiderme e da hipoderme do tegumento externo.

Berg (1975), estudando o fruto, a semente e a dispersão por mirmecocoria em espécies de *Micrantheum*, mostrou que cada lóculo do ovário aloja dois óvulos pêndulos, anátropos com rafe ventral. O autor relatou que tricomas do obturador estendem-se por todas as direções e penetram na micrópila, processo similar ao observado por Graner (1935) e Singh (1954). Berg (1975) mostrou ainda que existem algumas camadas de células com conteúdo mais denso na região mais interna da parede ovariana, chamadas de meristemáticas, as quais originarão o endocarpo esclerenquimático segundo o autor. A camada mecânica da semente é o exotégmen, com células espessas e alongadas radialmente. Em *Micrantheum*, não há projeção do nucelo através da micrópila, como relatado por outros autores para algumas Euphorbiaceae; a reserva do endosperma é oleaginosa e protéica, apresentada sob a forma de grãos de aleurona.

Rao & Rao (1976), em estudo sobre a embriologia da mandioca, apontaram os seguintes resultados: ovário trilocular com um único óvulo anátropo em cada lóculo e presença de projeção muito longa do nucelo, a qual ultrapassa os tegumentos através da micrópila, alcançando o obturador placentário. Os autores afirmaram que alguns pesquisadores, dentre eles Graner (1935), Singh (1954) e Berg (1975), chegaram a uma conclusão errônea, ao afirmarem que o obturador penetra, através da micrópila, para o interior dos tegumentos. Segundo Rao & Rao (1976), ocorre exatamente o contrário, é a projeção do nucelo que avança entre os tegumentos, encontrando o obturador externamente à micrópila. Dos relatos de Rao & Rao (1976), chama a atenção a presença de reserva amilácea na projeção do nucelo.

Nassar & Teixeira (1983) promoveram um estudo sobre a quebra da dormência de sementes de espécies selvagens de mandioca, afirmando que ocorre dormência extrema, sendo

quase impossível as sementes germinarem sob condições naturais. Os autores relataram que mesmo tratamentos como escarificação ou remoção do tegumento da semente e mesmo o uso de hormônios foram inúteis na quebra da dormência das sementes. Neste trabalho, os autores utilizaram um regime de alternância de temperaturas para conseguir a germinação, sendo 16 horas a 26°C e oito horas a 38°C. Ao final de 35 dias, o percentual de germinação foi de 25%, 9%, 9% e 16%, respectivamente para *Manihot longepetiolata*, *M. salicifolia*, *M. gracilis* e *M. pentaphylla*.

Lagôa & Pereira (1989) estudaram a participação do tegumento no controle da germinação das sementes de *Ricinus communis*, verificando que o tegumento das sementes dificulta a entrada de água para o embrião, uma vez que sementes nuas embebem e germinam mais rapidamente. O tegumento, provavelmente, exerceu ainda uma barreira física ao crescimento da plântula, visto que a velocidade da germinação é maior quando as sementes foram escarificadas na região onde ocorre a protrusão da raiz (próximo à carúncula), fato que não ocorreu com sementes escarificadas em outras regiões.

Lisci *et al.* (1996) promoveram uma análise sobre a estrutura e função dos elaiossomos de algumas espécies de Angiospermas, relatando que a carúncula de *Ricinus communis* exerce função na desidratação, embebição e germinação das sementes. Os dados mostraram que, cinco dias após a fecundação, a carúncula já apresenta epiderme típica, com células colunares, sem estômatos nem cutícula, e um tecido parenquimático de células aparentemente isodiamétricas. Com o desenvolvimento da semente e da carúncula, as células parenquimáticas aumentam em tamanho. Por meio de experimentos, os autores demonstraram que a semente perde água principalmente por meio da carúncula, uma vez que ela é a primeira parte da semente a ser exposta durante a deiscência dos mericarpos. Os autores ainda afirmaram que as sementes com carúncula perdem e ganham água mais rapidamente do que as sementes cuja estrutura foi removida, e que sementes carunculadas germinaram dois dias antes das sementes sem carúncula. Concluiu-se que a presença da carúncula favoreceu a germinação, aumentando sua velocidade e porcentagem.

Tokuoka & Tobe (1998, 2002, 2003) promoveram análises em óvulos e sementes de espécies das subfamílias Crotonoideae (111 espécies de 50 gêneros, reunidos em 12 tribos), Euphorbioideae (79 espécies de 32 gêneros, agrupados em cinco tribos) e Acalyphoideae (172 espécies de 80 gêneros, distribuídos em 20 tribos). Os autores afirmaram que existem aproximadamente 50 caracteres embriológicos relevantes para analisar óvulos e sementes de Euphorbiaceae, sendo cinco deles utilizados comumente para comparação entre as subfamílias e até mesmo dentro delas, tais como: maior ou menor espessura do tegumento

interno; presença ou ausência de feixes vasculares no tegumento interno; óvulo ou semente paquicalazais ou não; semente arilada ou não; exotégmen fibroso ou não. Nos três trabalhos referidos, os autores analisaram detalhadamente as cinco características supracitadas.

Silva *et al.* (2001) realizaram um estudo sobre a biologia reprodutiva de etnovarietades de mandioca, observando que as inflorescências da mandioca são panículas e racimos compostos por flores masculinas e femininas, caracterizando, assim, plantas monóicas. Na flor masculina, encontraram dez estames, cinco são mais longos que os demais; na flor pistilada, o ovário mostrou três lóculos e um único óvulo por lóculo. A porcentagem da viabilidade dos grãos de pólen varia de 0,03 a 95% e espécie de abelha *Apis mellifera* foi o principal agente polinizador encontrado; observaram-se, ainda, outros insetos polinizadores, como coleópteros, vespas e abelhas irapuá. Foram observados poucos casos de apomixia, ou seja, sementes formadas sem fecundação. Os resultados dos testes de germinação revelaram que sementes obtidas de frutos monospermicos apresentaram 53,49% de germinação, enquanto sementes oriundas de frutos com duas ou três sementes mostraram 32,5 e 40,32% de germinação respectivamente.

Finalizando esta revisão, Añes *et al.* (2005), em estudo sobre a caracterização morfológica dos frutos, sementes e do desenvolvimento das plântulas de *Jatropha elliptica*, mostraram que o fruto é seco com três cocas, endocarpo lenhoso e deiscência explosiva; os frutos atingiram cerca de 12,5 mm de comprimento e geralmente apresentaram três sementes. A semente apresentou cerca de 8,25 mm de comprimento e mostrou carúncula, hilo visível e rafe bem demarcada. O embrião é reto, com cotilédones planos, foliáceos e eixo hipocótilo-radícula, apresentando o mesmo padrão já descrito por outros autores citados anteriormente. O tempo médio para a germinação das sementes foi de 13 a 25 dias, e as sementes desta espécie não germinaram, mesmo escarificadas, quando colocadas em substrato umedecido somente com água; somente ocorre germinação quando o substrato é umedecido com ácido giberélico. Por volta de sete dias após a emissão da raiz, as folhas cotiledonares estão completamente expandidas. Segundo os autores, a germinação é do tipo epígea e fanerocotiledonar.

Conforme estabelecido pelo Conselho da Área do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), os resultados obtidos durante a execução deste Projeto de Mestrado foram reunidos em artigos científicos para publicação, os quais estão sendo apresentados de acordo com as normas da *Revista Brasileira de Botânica*:

Capítulo I: Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae)

Capítulo II: Morfoanatomia e ontogênese das sementes em desenvolvimento de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae)

CAPÍTULO I

**Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita*
Müll. Arg. (Euphorbiaceae)¹**

JONATHAS HENRIQUE GEORG DE OLIVEIRA² e DENISE MARIA TROMBERT
OLIVEIRA^{3,4}

Título resumido: Fruto de *Manihot caerulescens* e *M. tripartita*

-
1. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.
 2. UNESP – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu, SP, Brasil.
 3. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.
 4. Autor para correspondência: dmtoliveira@icb.ufmg.br

RESUMO – (Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae)). *Manihot caerulescens* e *M. tripartita*, ambas conhecidas por mandioca-brava, são representantes de Euphorbiaceae que ocorrem em fisionomias campestres de cerrado e eventualmente em cerradão. Em relação aos frutos desta família, não se encontram muitos trabalhos sobre a estrutura do pericarpo, sendo que os que existem são na maioria das vezes descrições morfológicas, produzindo interpretações dúbias especialmente sobre a deiscência. O presente trabalho objetivou descrever a morfologia, anatomia e ontogênese do pericarpo das duas espécies de *Manihot*, comparando-as entre si e relacionando aspectos estruturais do pericarpo à deiscência. Verificou-se que o desenvolvimento do pericarpo enquadra-se em quatro estágios, típicos de frutos secos, formando-se dois meristemas, um subadaxial, que produz o mesocarpo interno, e outro adaxial, que forma o endocarpo homogêneo, colenquimatoso em *M. caerulescens*, e heterogêneo em *M. tripartita*, com uma região de fibroesclereídes gelatinosas externas e uma porção colenquimatosa interna. Observou-se a formação de tecido de separação, composto por parênquima laxo, tanto em direção aos feixes dorsais dos três carpelos quanto em direção aos septos, mais evidente em *M. tripartita*. Por fim, verificou-se a composição do estrato esclerenquimático: em *M. caerulescens*, há apenas uma faixa de fibroesclereídes e outra de braquiesclereídes, ambas originadas pelo mesocarpo; em *M. tripartita*, ocorrem as duas faixas mesocárpicas mais espessas, acrescidas do endocarpo externo, também composto por fibroesclereídes. Em função do desenvolvimento dos tecidos de separação e da amplitude do estrato esclerenquimático, os frutos de *M. caerulescens* são cápsulas indeiscentes, enquanto *M. tripartita* forma cápsulas septi-loculicidas, uma vez que a deiscência, embora passiva, ocorre nas regiões dorsais e em direção aos septos.

Palavras-chave – anatomia, *Manihot*, morfologia, ontogênese, pericarpo

Introdução

Euphorbiaceae compreende aproximadamente 290 gêneros e 7.500 espécies distribuídas por todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (Barroso *et al.* 1991). Destes, cerca de 70 gêneros e 1.000 espécies são encontradas no Brasil (Barroso *et al.* 1991, Souza & Lorenzi 2005). De acordo com Webster (1994), são reconhecidas cinco subfamílias, Phyllanthoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae, sendo que as duas primeiras apresentam dois óvulos por lóculo, e as três outras, um único óvulo por lóculo.

De acordo com APG II (2003), Euphorbiaceae está inserida na ordem Malpighiales e é representada por indivíduos que apresentam somente um óvulo por lóculo; com isso, Phyllanthoideae foi reorganizada em Phyllanthaceae, e Oldfieldioideae em Picrodendraceae.

A análise da literatura disponível revela que informações sobre anatomia de órgãos reprodutivos de Euphorbiaceae são escassas, destacando-se os trabalhos de Graner (1935, 1942), Landes (1946), Singh (1954, 1969), Toledo (1963), Singh & Chopra (1970), Berg (1975), Mendonça (1983), Lagôa & Pereira (1989), Paoli *et al.* (1995), Tokuoka & Tobe (1998, 2002, 2003), Freitas *et al.* (2001) e Luchi (2004).

De acordo com Barroso *et al.* (1999), as Euphorbiaceae podem exibir os seguintes tipos de frutos: esquizocarpáceos, capsulídeos, drupóides e bacóides. Os autores relataram, ainda, a existência de raras cápsulas indeiscentes para a família.

Von Teichman & Van Wyk (1991) afirmaram que os órgãos reprodutivos exibem uma grande riqueza, que deve ser considerada na classificação das plantas, e ainda reconhecem que a falta de evidências ontogenéticas e descritivas destes órgãos causa dificuldades para se especular sobre tendências evolutivas que possam ter afetado estas estruturas. Assim, é cada vez maior a procura por informações a respeito de frutos e sementes, de forma a complementar aquelas provenientes dos órgãos vegetativos. Além disso, descrições fundamentadas apenas em observações morfológicas produzem, muitas vezes, interpretações dúbias, as quais não se sustentam à luz de análises anatômicas e ontogenéticas.

Muitos representantes de Euphorbiaceae apresentam uma secreção, geralmente leitosa, denominada látex (Cutter 1986). Mendonça (1983) publicou um estudo mostrando que algumas espécies de *Manihot* Müll. foram levadas para a África, Malásia e Índia, visando à extração da borracha, presente no látex; dentre as espécies utilizadas para tal propósito, está *M. caerulescens* Pohl.

Para o presente trabalho, selecionou-se *M. caerulescens* e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae, Crotonoideae) ambas conhecidas popularmente como mandioca-brava; são espécies que ocorrem em fisionomias campestres de cerrado, cerrado típico, e eventualmente em cerradão no estado de São Paulo (Durigan *et al.* 2004).

Segundo registros da literatura, os frutos de *M. caerulescens* e *M. tripartita* apresentam deiscência do tipo loculicida e/ou septicida (Rogers & Appan 1973). Contudo, vale ressaltar que os autores não promoveram estudos anatômicos ou ontogenéticos que permitissem afirmar, com segurança, o tipo de deiscência que ocorre nestes frutos.

Tendo em vista estas considerações, este trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: descrever a morfologia e anatomia do pericarpo de *M. caerulescens* e *M. tripartita*, nas diversas fases de seu desenvolvimento; identificar e relacionar as estruturas do fruto que compõem o diásporo, avaliando a ocorrência de deiscência; verificar possíveis padrões estruturais comuns às espécies estudadas e a outras Euphorbiaceae.

Material e métodos

O material botânico estudado constou de botões florais, flores em antese e pós-antese, frutos jovens em vários estágios de desenvolvimento e frutos maduros, coletados de vários indivíduos de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg., localizados na Rodovia Geraldo Pereira de Barros nos km 167 e 170, próximo ao município de Botucatu, SP. Ramos férteis foram depositados no Herbário “Irina D. Gemtchujnicov” (BOTU) do Departamento de Botânica, UNESP, Câmpus de Botucatu, registrados respectivamente sob os números 25.202 e 20.090.

O material coletado foi separado por tamanho e fixado em FAA 50 (Johansen 1940) por 48 horas, com passagem em bomba de vácuo, seguindo-se a conservação em álcool etílico 70% (Jensen 1962). Posteriormente, parte do material botânico foi desidratado em série etílica, incluído em metacrilato Leica® (de acordo com as instruções do fabricante) e seccionado em micrótomo rotativo em séries transversais e longitudinais; os cortes variaram entre 7 e 12 µm de espessura e foram corados com azul de toluidina 0,05% em pH 4,7, segundo O’Brien *et al.* (1964), e montados entre lâmina e lamínula com Entellan®.

A região esclerenquimática dos frutos foi submetida à técnica de maceração de Franklin (1945), modificada conforme sugerido por Kraus & Arduin (1997), montando-se em gelatina glicerinada (Dop & Gautié 1928).

Também foram realizados testes histoquímicos para evidenciar algumas substâncias. Utilizaram-se os seguintes reagentes: floroglucinol com adição de ácido clorídrico concentrado, para evidenciar paredes lignificadas (Sass 1951); Sudan IV, para a localização de substâncias lipídicas; lugol, para a detecção de amido e cloreto férrico, para verificar a ocorrência de compostos fenólicos (Johansen 1940).

Para a descrição dos resultados, utilizou-se a terminologia de Roth (1977) e de Barroso *et al.* (1999). A descrição do pericarpo foi feita dividindo-se o desenvolvimento em quatro estágios: estágio I – ovário; estágio II – divisões celulares por todo pericarpo; estágio III – fase de alongamento e diferenciação celular; estágio IV – lignificação do estrato esclerenquimático.

Após a análise do laminário em microscopia de luz, os resultados foram documentados por meio de fotografias e fotomicrografias, sendo as escalas preparadas de modo convencional. As dimensões dos frutos maduros foram mensuradas com paquímetro.

Resultados

O desenvolvimento do pericarpo nas espécies estudadas segue um padrão bem constante. As particularidades em relação a cada espécie serão destacadas quando necessário.

Observou-se que o florescimento de *M. caerulescens* e *M. tripartita* ocorre a partir de setembro e os primeiros frutos são encontrados já em outubro.

Estágio I – As flores estaminadas e pistiladas são encerradas somente pelas sépalas. As flores pistiladas (figura 1) são tricarpelares e, durante o desenvolvimento do fruto, as sépalas secam e entram em abscisão.

Em secção transversal, o ovário de *M. caerulescens* apresenta forma hexagonal (figura 2) devido ao início da formação de seis projeções longitudinais (três dorsais e três em direção aos septos), enquanto o ovário de *M. tripartita* é aproximadamente circular (figura 3).

A epiderme externa da parede ovariana em ambas as espécies é unisseriada, cuticularizada e estomatífera; algumas células apresentam conteúdo fenólico (figuras 4-5). Em *M. tripartita* existem tricomas tectores unicelulares distribuídos, em grande quantidade, por toda a epiderme externa (figura 3); estes tricomas são alongados e possuem ápice afilado; sua parede é espessada, observando-se citoplasma pouco denso e núcleo evidente (figura 5). Nas duas espécies, as células epidérmicas são cubóides, densas e apresentam núcleos centrais.

O mesofilo é parenquimático e apresenta, subabaxialmente, até três camadas de células com freqüentes idioblastos fenólicos. As demais células do mesofilo vão aumentando de tamanho em direção à região mediana, de onde voltam a diminuir (figura 4); por vezes, as células mais internas do mesofilo podem ser menores que as externas. Cerca de quatro estratos de células localizadas na região mais interna do mesofilo ovariano são formadas por células alongadas oblíqua e tangencialmente. Cordões procambiais estão imersos, na região mediana do mesofilo (figura 4), com alguns elementos vasculares já diferenciados. Existem aproximadamente seis cordões procambiais laterais em *M. caerulescens* e oito em *M. tripartita*, para cada carpelo.

Os feixes dorsais já estão bem diferenciados neste estágio; são feixes colaterais, com xilema e floema bem distintos, acompanhados por alguns idioblastos com substâncias

fenólicas. Em direção aos feixes dorsais, destaca-se maior vacuolização das células do mesofilo, o mesmo ocorrendo em direção aos septos (figuras 2-3).

Os feixes ventrais estão ainda individualizados, havendo dois para cada carpelo. Eles estão separados um do outro por tecido parenquimático com idioblastos fenólicos (figuras 6-7).

A epiderme interna da parede ovariana das duas espécies apresenta uma única camada de células cubóides (figuras 4, 8) com núcleos volumosos e centrais, glabra e delgadamente cuticularizada. São encontradas poucas células com conteúdo fenólico e, desde muito jovem, observam-se algumas divisões periclinais (figura 8).

Estágio II – Quando jovens, os frutos são verdes e ocorre intensa atividade mitótica; em *M. caerulescens* destaca-se a ampliação das seis projeções longitudinais no fruto, três delas provenientes das regiões dorsais dos três carpelos e as outras três, derivadas das regiões dos septos.

O exocarpo é muito semelhante à epiderme externa da parede ovariana, porém evidenciam-se divisões anticlinais (figura 9).

O mesocarpo é multiplicativo, ocorrendo numerosas divisões nos planos periclinal, anticlinal e oblíquo. As divisões periclinais que ocorrem sob o exocarpo compõem o mesocarpo externo, região que abrange numerosas células com conteúdo fenólico (figura 9).

Nas duas espécies, o mesocarpo mediano apresenta células mais volumosas e divisões em planos aleatórios. Diferenciam-se feixes vasculares em toda a lateral do pericarpo, inclusive ao longo dos septos. Os feixes dorsais são bem desenvolvidos e colaterais, inseridos próximo ao mesocarpo interno (figura 10). É neste estágio que se observa a diferenciação de laticíferos, associados ou não aos feixes vasculares.

Na região axial, muitas células acumulam compostos fenólicos. Com o desenvolvimento do fruto, há instalação de câmbio entre os feixes ventrais dos carpelos adjacentes e também entre eles, fazendo com que, a partir de pequena atividade cambial, a vascularização ventral seja constituída por três unidades, uma em direção a cada septo (figuras 11-12). Nos septos, numerosas divisões produzem o tecido de separação, composto por células cubóides e idioblastos fenólicos.

As camadas mais internas do mesocarpo mediano mostram células nitidamente alongadas nos sentidos oblíquo e tangencial, a qual é contínua ao longo dos septos. O mesocarpo interno é constituído por um meristema subadaxial, que apresenta células

isodiamétricas, com citoplasma de conteúdo mais denso e núcleos bem volumosos (figuras 13-14).

O endocarpo de ambas as espécies é constituído pelo meristema adaxial que, desde muito jovem, apresenta divisões periclinais (figuras 13-14).

Estágio III – Os frutos crescem bastante (figuras 15-16), atingindo seu tamanho definitivo ao final deste estágio.

Com o desenvolvimento do fruto, o exocarpo passa por pequenas alterações, mantendo-se unisseriado (figuras 17-18). Suas paredes, porém, tornam-se mais espessadas, de natureza pecto-celulósica e a cutícula fica bem espessa (figura 19). Em *M. tripartita*, ainda podem ser observados os tricomas tectores, contudo, em menor densidade que no ovário (figura 17). Nesta espécie, forma-se uma pequena reentrância no exocarpo, localizada sobre o tecido de separação de cada região dorsal (figura 18).

É no mesocarpo que ocorrem as principais alterações relativas à estrutura do fruto. Na fase de diferenciação, as células mesocárpicas aumentam muito de volume, fazendo com que o fruto cresça consideravelmente. A quantidade de células que armazenam substâncias fenólicas também aumenta muito, principalmente no mesocarpo externo que passa a ter, em *M. caerulescens*, até dez camadas destas células, contra cerca de seis em *M. tripartita* (figuras 17-18).

No mesocarpo mediano, ainda ocorre aumento no número de camadas de células e no volume das mesmas. Há também grande diferenciação dos feixes vasculares laterais, que passam a mostrar arranjo anficrival (figura 20).

A quantidade de laticíferos também aumenta muito, em *M. caerulescens* visivelmente mais que em *M. tripartita*; os laticíferos encontram-se mais diferenciados, sendo articulados e ramificados (figura 21); estão dispersos por todo o mesocarpo externo e mediano, bem como associados aos feixes vasculares.

As células da região mais interna do mesocarpo mediano tornam-se mais oblíquas e alongadas tangencialmente (figuras 22-23).

O mesocarpo interno cresce de modo mais intenso, principalmente em *M. tripartita*, na qual estas células passam a apresentar alongamento radial (figuras 22-23). Já em *M. caerulescens*, o crescimento não acontece de forma tão acentuada e suas células apresentam-se mais arredondadas.

Já no início do estágio de diferenciação, as células da região voltada para os feixes dorsais e para os septos ficam mais estreitas, ligeiramente alongadas radialmente (figura 18).

No endocarpo de ambas as espécies, ocorrem camadas de células obliquamente posicionadas, levemente alongadas no sentido tangencial (figuras 22-23).

Estágio IV – Os frutos maduros de *M. caerulescens* são indeiscentes e medem aproximadamente 3,2 cm de comprimento por 2,6 cm de diâmetro, enquanto que, em *M. tripartita*, os frutos são deiscentes e medem aproximadamente 1,8 cm de comprimento por 1,6 cm de diâmetro. Os frutos desta última espécie são mais globosos, com tricomas dispersos e não visíveis a olho nu, enquanto os de *M. caerulescens* são ovados e realmente glabros (figura 24).

De todo o material processado durante o presente trabalho, foi encontrado, em *M. tripartita*, um único fruto tetralocular com todas as sementes perfeitamente formadas.

No exocarpo de ambas as espécies, o tamanho das células fica reduzido e seu contorno mais irregular, em função do grande alongamento pericárpico; há também um acentuado aumento da cutícula, observado principalmente em *M. caerulescens*. Os tricomas permanecem esparsos no exocarpo de *M. tripartita* (figura 25).

No fruto bem desenvolvido, há algumas camadas de células do mesocarpo externo que apresentam paredes ligeiramente mais espessas e densamente fenólicas em *M. tripartita* (figura 25) e cerca de dez em *M. caerulescens*.

No mesocarpo mediano, ocorre aumento acentuado no volume das células, observando-se reserva amilácea na região mais interna em ambas as espécies. Existem vários grupos de fibras, espalhados pelo mesocarpo mediano exclusivamente em *M. tripartita* (figuras 27, 29), associados ou não a feixes vasculares. Os laticíferos permanecem ativos na maturidade, apresentando nítido conteúdo lipídico; a fresco, o látex apresenta coloração amarelada.

Tanto em *M. caerulescens* quanto em *M. tripartita*, na direção dos feixes dorsais, observa-se a presença de camadas de células parenquimáticas menores que as contíguas (figuras 26-27), abrigando espaços intercelulares que são mais evidentes em *M. caerulescens* (figura 26). Nesta espécie, este tecido contrai-se na maturidade; em *M. tripartita*, atua como tecido de separação sobre o qual se dá a abertura dorsal. Já em direção aos septos, existe um tecido parenquimático amplo e coeso em *M. caerulescens*, sem grandes espaços intercelulares, o qual é contínuo com o parênquima do septo (figura 28); em *M. tripartita*, ocorre um tecido de separação semelhante ao dorsal e o parênquima do septo tem aspecto laxo (figura 29).

As células mais internas do mesocarpo mediano alongadas tangencial e obliquamente, diferenciam-se em aproximadamente cinco camadas de fibroesclereídes gelatinosas em *M. caerulescens* (figura 30) e cerca de oito em *M. tripartita* (figura 31); células não muito longas e de extremidades ligeiramente afiladas (figuras 33, 35). Em *M. tripartita*, um pequeno grupo dessas células mostra-se contínuo mesmo em direção aos septos (figura 29).

Um estrato de braquiesclereídes, que mantém citoplasma, vacúolos e núcleos evidentes até a maturidade, compõe o mesocarpo interno, com até nove camadas de células mais arredondadas em *M. caerulescens* (figuras 28, 30, 33) e até dez camadas de braquiesclereídes com alongamento radial em *M. tripartita* (figuras 29, 31, 34).

Em *M. caerulescens*, o endocarpo no fruto maduro é exclusivamente de natureza colenquimatosa, com aproximadamente seis a oito camadas de células (figura 30), algumas das quais acumulam substâncias fenólicas. Já em *M. tripartita*, o endocarpo tem composição mista: as camadas mais externas diferenciam-se em aproximadamente oito estratos de fibroesclereídes gelatinosas e somente cerca de três camadas celulares mantêm-se colenquimatosas (figuras 31-32).

Em resumo, ao final do desenvolvimento do pericarpo, observa-se a presença de lignificação na parte mais interna da região interna do mesocarpo mediano e do mesocarpo interno em *M. caerulescens*; em *M. tripartita*, estas mesmas regiões são lignificadas, o que também ocorre coma região mais externa do endocarpo.

Em *M. caerulescens*, encontra-se reserva de amido nas células que compõem o tecido de separação e na região axial, contornando a vascularização ventral (figura 36). Na maturidade das duas espécies, o câmbio mantém em atividade nas unidades ventrais, visualizando-se a nítida presença de xilema e floema secundários (figura 37) e a região axial com grandes espaços intercelulares (figuras 36, 38).

Discussão

Estudos sobre a anatomia e a morfologia dos frutos são necessários devido à importância destas estruturas no ciclo de vida do vegetal. Diversas são as finalidades dos estudos estruturais como: verificar possíveis padrões morfológicos e anatômicos comuns entre táxons; indicar prováveis formas de especialização nos órgãos analisados; promover correta interpretação e classificação dos mesmos; e inclusive, fornecer bases seguras para solucionar problemas na identificação de determinadas espécies.

A descrição do desenvolvimento dos frutos e sementes utilizando períodos de crescimento foi inicialmente feita por pesquisadores que analisaram pericarpos carnosos (Lilleland 1930, Tukey & Young 1939). Eles reconheceram três ciclos de crescimento: o primeiro, em que ocorre rápido aumento no tamanho do fruto e tegumentos seminais; o segundo, onde o embrião se diferencia, embora a velocidade de crescimento do fruto diminua sensivelmente; e o terceiro, que é caracterizado pela paralisação do desenvolvimento do embrião e retomada de um ativo alongamento no fruto. Como tal procedimento mostrou-se eficiente, os frutos secos também passaram a ser descritos desta maneira, com algumas adaptações, principalmente porque, nesses pericarpos, o crescimento não é retomado após o desenvolvimento seminal (Bisson & Jones 1932, Nitsch 1953, Souza 1984, Oliveira & Beltrati 1993, Pietrobon & Oliveira 2004).

O pericarpo das espécies estudadas apresentou o desenvolvimento característico dos frutos secos, partindo da estrutura ovariana (denominado de estágio I), passando pelo ciclo de crescimento por divisão celular (estágio II), seguido da fase de alongamento celular (estágio III) e, finalmente, apresentando a lignificação do estrato esclerenquimático pericárpico (estágio IV).

Segundo Fahn (1974), durante a filogenia da plantas, têm ocorrido fenômenos de coesão, adnação e até de aborto de certos órgãos. É aceito geralmente que, durante o processo evolutivo, a fusão externa precede a interna e a fusão do sistema vascular é o último passo que se estabelece. Existindo fusão em grande parte do carpelo e placentação axial, os feixes ventrais são empurrados para o centro do ovário, onde se unem dois feixes invertidos do mesmo carpelo ou de carpelos distintos.

No ovário de ambas as espécies estudadas, os dois feixes ventrais de cada carpelo mostram-se individualizados, separados apenas por uma estreita faixa de células parenquimáticas. Cabe ressaltar que, com o desenvolvimento do fruto e a diferenciação de câmbio entre os feixes vasculares adjacentes em cada septo, a vascularização ventral passa a se constituir de três unidades vasculares compostas por tecidos secundários.

Um caráter que chama a atenção nas Euphorbiaceae é a presença de laticíferos. Esau (1959) e Cutter (1986) classificaram os laticíferos de *Manihot* como articulados não ramificados, do mesmo tipo que encontrado em *Hevea*, os quais se caracterizam por surgirem a partir de grupos de células enfileiradas, em que os protoplastos são fundidos após a dissociação completa ou incompleta das paredes limítrofes. A articulação foi encontrada nos laticíferos dos frutos de *M. caerulea* e *M. tripartita*, os quais ocorrem em grande quantidade, dispersos pelo mesocarpo. Contudo, os laticíferos amostrados neste trabalho são

ramificados em ambas as espécies, contrapondo a generalização de que os laticíferos de *Manihot* são articulados e não ramificados.

Quando frutos com porções internas lenhosas são avaliados, é comum referir-se ao endocarpo sem levar em conta detalhes de sua ontogênese. A porção lenhosa dos frutos de várias espécies de Euphorbiaceae têm sido referida como endocarpo pela maioria dos autores, como Toledo (1963), em seu estudo ontogenético com fruto e semente de *M. utilissima* (mandioca). Berg (1975), analisando os órgãos reprodutivos de espécies de *Micrantheum*, também se refere à porção lenhosa do pericarpo como endocarpo. Por sua vez, Añes *et al.* (2005) também chamaram a porção lenhosa do fruto de *Jatropha elliptica* de endocarpo, porém partindo de análises morfológicas e não ontogenéticas, como os dois autores anteriores.

As espécies de *Manihot* aqui estudadas apresentam um meristema subadaxial, que desenvolve esclereídes no mesocarpo interno do fruto maduro. Dos vários autores consultados, apenas Berg (1975) refere-se à existência de tal região, encontrada já na parede ovariana de espécies de *Micrantheum*.

É provável que os autores que chamam toda a porção esclerenquimática dos frutos das Euphorbiaceae de endocarpo não apliquem o conceito ontogenético, explicitado por Roth (1977), segundo o qual a epiderme externa ovariana origina o exocarpo, o mesofilo da parede ovariana forma o mesocarpo e a epiderme interna diferencia-se no endocarpo. Aplicando-se este conceito ontogenético aos pericarpos de *M. caerulescens* e *M. tripartita*, verifica-se nitidamente a ampla participação do mesocarpo na formação do estrato esclerenquimático, podendo haver (em *M. tripartita*) ou não (em *M. caerulescens*) a participação de células endocárpicas.

Toledo (1963), analisando os frutos de *M. utilissima*, relatou que há um tecido que forra a cavidade da semente, o qual chamou de “epiderme interna do ovário”. A referência a uma camada ovariana no interior do fruto é inadequada, visto que é exatamente esta epiderme que forma o endocarpo. Analisando-se os resultados de Toledo (1963) e comparando-os com os aqui obtidos, pode-se afirmar que o tecido ao qual a autora se refere são as camadas colenquimatosas do endocarpo.

Vários autores, dentre os quais Toledo (1963), Roosmalen (1985) e Webster (1994), classificaram os frutos de *Manihot* apenas como cápsulas, não caracterizando sua deiscência. Segundo o afirmado por Rogers & Appan (1973), os frutos de *Manihot* são cápsulas com deiscência geralmente loculicida e, às vezes, septicida. Para Souza & Lorenzi (2005), os frutos de Euphorbiaceae geralmente são cápsulas com deiscência elástica (tricoca), raramente baga, drupa ou sâmara. Nenhum destes autores, contudo, embasou suas

interpretações em estudo estrutural mais detalhado. A importância de estudos anatômicos para evitar enganos ou contradições nas avaliações fica evidente quando estruturas complexas como determinados frutos são analisadas somente pela morfologia. Assim sendo, o desejável é que pesquisas com sistemática e anatomia sejam associadas, tratando-se as plantas com ênfase interdisciplinar.

Para os frutos de mandioca (*M. utilisissima*), Toledo (1963) afirmou que a deiscência ocorre devido à desidratação do parênquima médio, que isola um carpelo de cada lado do eixo placentar; ao mesmo tempo, cada lóculo, devido à disposição das fibras, abre-se do ápice para a base. A autora não confirmou que este fruto é uma cápsula tricoca, embora sua descrição seja compatível com o tipo.

Fahn & Zohary (1955) promoveram um detalhado estudo sobre estruturas pericárpicas relacionadas à deiscência de leguminosas e relataram que existe correlação entre a anatomia da valva e a deiscência, especialmente considerando a estrutura do estrato esclerenquimático. Para os autores, esta correlação provavelmente conduziu ao desenvolvimento de variados tipos de frutos e à deiscência ou indeiscência dos mesmos. Quando as camadas do estrato esclerenquimático estão dispostas em sentidos distintos, especialmente se antagônicos entre as valvas, o fruto normalmente é deiscente.

Comumente, para a deiscência ativa dos frutos de leguminosas, dois fatores são indispensáveis: o cruzamento de células esclerenquimáticas e/ou o cruzamento das micelas de celulose de suas paredes celulares e a presença de um tecido de separação, que se estenda na região da deiscência, desde a epiderme interna até a epiderme externa (Fahn & Zohary 1955).

As características anatômicas do pericarpo das espécies estudadas de *Manihot* explicam o padrão do fruto no que concerne à deiscência. Desde o ovário até próximo da fase de maturação (estádio III), prevalecem células de parede delgadas e, quando espessadas, sem lignificação. Na maturidade (estádio IV), contudo, existe grande lignificação pericárpica, mais especificamente da região interna do mesocarpo mediano e no mesocarpo interno nas duas espécies, e também da porção externa do endocarpo em *M. tripartita*.

No caso de *M. tripartita*, o estrato esclerenquimático é muito amplo e elaborado; existe uma tripla região lignificada, composta por fibroesclereídes gelatinosas de origem mesocárpica (parte mais interna do mesocarpo mediano) e endocárpica, bem como pelas braquiesclereídes com origem no mesocarpo interno. Em *M. caerulea*, o mesmo não ocorre, sendo o estrato esclerenquimático duplo, formado por um estrato de fibroesclereídes gelatinosas (de origem no mesocarpo mediano) e um estrato de braquiesclereídes não alongadas radialmente (originadas no mesocarpo interno).

Com relação à presença de tecido de separação, tanto em *M. caerulescens* quanto em *M. tripartita* ocorrem células parenquimáticas arredondadas e com evidentes espaços intercelulares em direção dos feixes dorsais. Já em direção aos septos, as espécies divergem: nos frutos de *M. caerulescens*, existe um tecido parenquimático coeso, sem muitos espaços intercelulares, que acomodam a pressão exercida pela desidratação das células esclerenquimáticas; em *M. tripartita*, existe um tecido de separação mais laxo, separado do aerênquima do septo por algumas células esclerenquimáticas, que unem a porção lignificada de um carpelo a outro. Portanto, a deiscência nesta última espécie ocorre devido à força produzida pela tripla região de esclereídes no pericarpo, que provoca a retração de cada mericarpo, rompendo-se a região dorsal quanto os septos.

Considerando os resultados obtidos, conclui-se que os frutos de *M. caerulescens* são cápsulas indeiscentes, os quais, durante o desenvolvimento, aumentam consideravelmente de tamanho e, ao fim do estágio de maturação, começam a se desidratar, ocorrendo retração do parênquima mesocárpico e enrugamento de toda a porção externa do pericarpo. Já os frutos de *M. tripartita* são cápsulas septi-loculicidas, uma vez que sua deiscência se dá em direção aos septos e ao feixe dorsal.

Estudando espécies de *Phyllanthus*, Webster (1956) observou que a deiscência é explosiva nas plantas herbáceas anuais, enquanto que, nas subarborescentes, a tendência é apresentar frutos carnosos com deiscência passiva e tardia ou indeiscentes; nas arbóreas, são freqüentes os frutos drupáceos lenhosos. *Manihot caerulescens* e *M. tripartita* são espécies arbustivas (Durigan *et al.* 2004) e formam cápsulas indeiscentes e deiscentes, respectivamente, indicando que o proposto por Webster (1956) não pode ser estendido para todos os gêneros de Euphorbiaceae.

Frutos indeiscentes têm sido relatados para algumas Euphorbiaceae por vários autores, como Barroso *et al.* (1999) e Souza & Lorenzi (2005). Barroso *et al.* (1999) inclusive mencionaram que existem cápsulas indeiscentes, porém não informaram em quais gêneros ou espécies foram encontrados estes frutos.

Em *M. caerulescens*, registrou-se que o próprio pericarpo compõe, em conjunto com as sementes, o diásporo; este pericarpo acumula mais reserva de amido que o de *M. tripartita*, onde o diásporo é a própria semente. Em observações pessoais de campo, foram encontradas grandes formigas, alimentando-se dos frutos de *M. caerulescens*. Assim, a indeiscência desenvolvida nesta espécie pode representar adaptação à zoocoria, em que o pericarpo apresenta compostos nutritivos que podem ser explorados pelo dispersor sem causar

nenhum dano à semente, que se encontra protegida pelo estrato esclerenquimático bem desenvolvido.

Agradecimentos – Ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida a J.H.G. de Oliveira e pela bolsa de produtividade em pesquisa de D.M.T. Oliveira; à FAPESP-Programa BIOTA (Proc. 00/12469-3), pelo auxílio financeiro; à Dra. Inês Cordeiro pela identificação das espécies e ao Sr. Clemente José Campos pela localização das plantas e auxílio nas primeiras coletas.

Referências bibliográficas

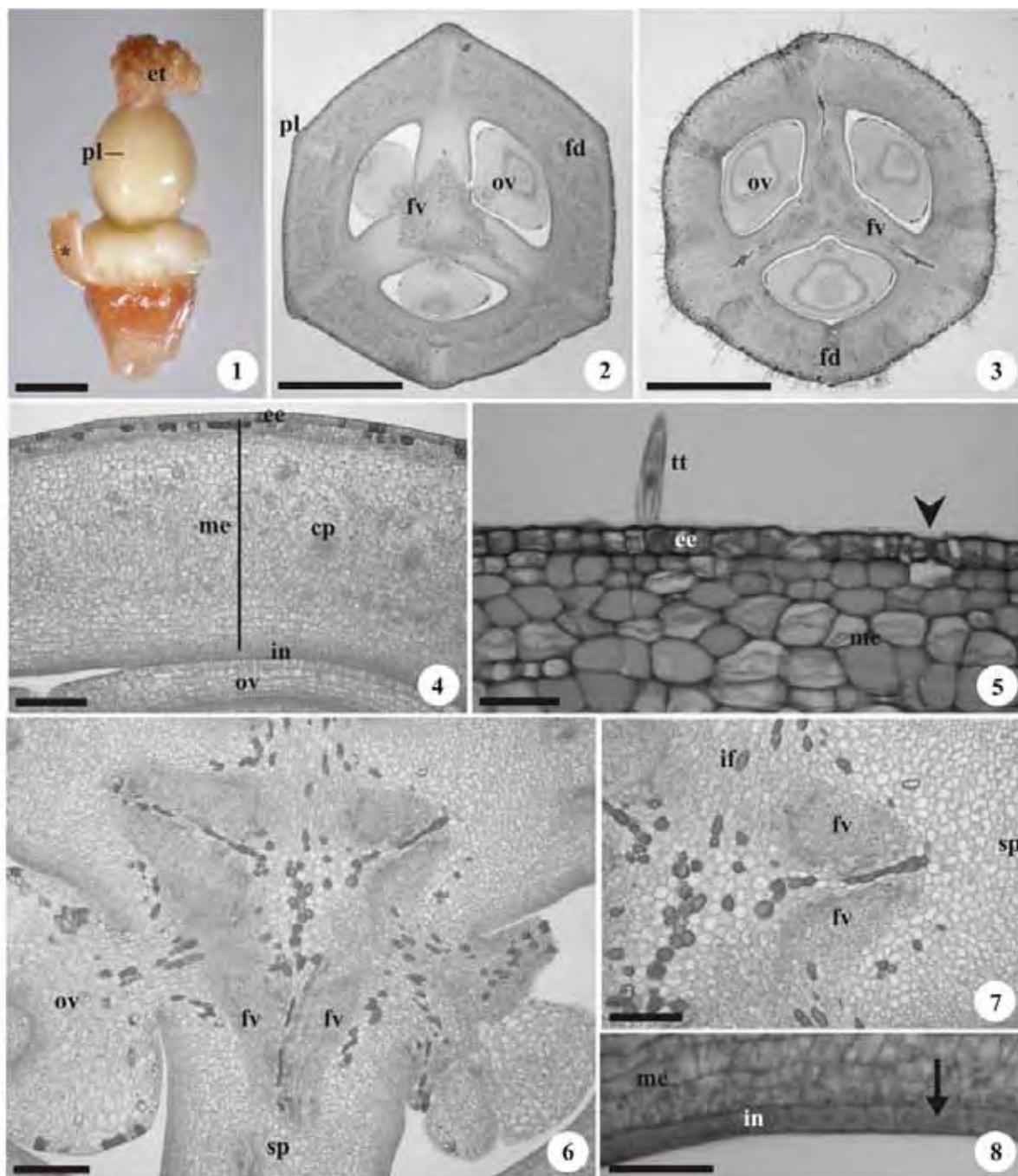
- AÑES, L.M.M., COELHO, M.F.B., ALBUQUERQUE, M.C.F & DOMBROSKI, J.L.D. 2005. Caracterização morfológica dos frutos, das sementes e do desenvolvimento das plântulas de *Jatropha elliptica* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28:563-568.
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141:399-436.
- BARROSO, G.M., PEIXOTO, A.L., COSTA, C.G., ICHASO, C.L.F., GIMARÃES, E.F. & LIMA, H.C. 1991. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Imprensa Universitária, Viçosa.
- BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. *Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas*. Editora UFV, Viçosa.
- BERG, R.Y. 1975. Fruit, seed, and myrmecochorous dispersal in *Micrantheum* (Euphorbiaceae). *Norwegian Journal of Botany* 22:173-194.
- BISSON, C.S. & JONES, H.A. 1932. Changes accompanying fruit development in the garden pea. *Plant Physiology* 7:91-105.
- CUTTER, E.C. 1986. *Anatomia vegetal (Primeira parte) – Células e tecidos*. 2ªed. Ed. Roca, São Paulo.
- DOP, P. & GAUTIÉ, A. 1928. *Manuel de technique botanique*. J. Lamane, Paris.
- DURIGAN, G., BAITELLO, J.B., FRANCO, G.A.D.C. & SIQUEIRA, M.F. 2004. *Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada*. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.
- ESAU, K. 1959. *Anatomia vegetal*. Ediciones Omega, Barcelona.
- FAHN, A. 1974. *Anatomia vegetal*. H. Blume Ediciones, Madri.

- FAHN, A. & ZOHARY, M. 1955. On the pericarpial structure of the legumen, its evolution and relation to dehiscence. *Phytomorphology* 5:99-111.
- FRANKLIN, G.L. 1945. Preparation of thin section of the synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155:51.
- FREITAS, L., BERNARDELLO, G., GALETTO, L. & PAOLI, A.A.S. 2001. Nectaries and reproductive biology of *Croton sarcopetalus* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 136:267-277.
- GRANER, E.A. 1935. Contribuição para o estudo citológico da mandioca. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- GRANER, E.A. 1942. Notas sobre florescimento e frutificação da mandioca. *Bragantia* 2:1-2.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W.H. Freeman, San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book, New York.
- KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em Morfologia Vegetal*. EDUR, Seropédica.
- LAGÔA, A.M.M.A. & PEREIRA, M.F.D.A. 1989. Envolvimento do tegumento no controle da germinação de sementes de *Ricinus communis* L. *Revista de Biologia* 14:213-220.
- LANDES, M. 1946. Seed development in *Acalypha rhomboidea* and some other Euphorbiaceae. *American Journal of Botany* 33:562-568.
- LILLELAND, O. 1930. Growth study of the apricot fruit. *Proceedings of the American Society of Horticultural Sciences* 27:237-245.
- LUCHI, A.E. 2004. Anatomia do lenho de raiz de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) de solos com diferentes níveis de umidade. *Hoehnea* 31:243-250.
- MENDONÇA, M.S. 1983. Estudo de plantas laticíferas. I Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot caerulescens* Pohl. *Acta Amazonica* 13:501-517.
- NITSCH, J.P. 1953. The physiology of fruit growth. *Annual Review of Plant Physiology* 4:199-236.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidina blue. *Protoplasma* 59:368-373.
- OLIVEIRA, D.M.T. & BELTRATI, C.M. 1993. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento de *Inga fagifolia* (Fabaceae: Mimosoideae). *Revista Brasileira de Biologia* 53:625-636

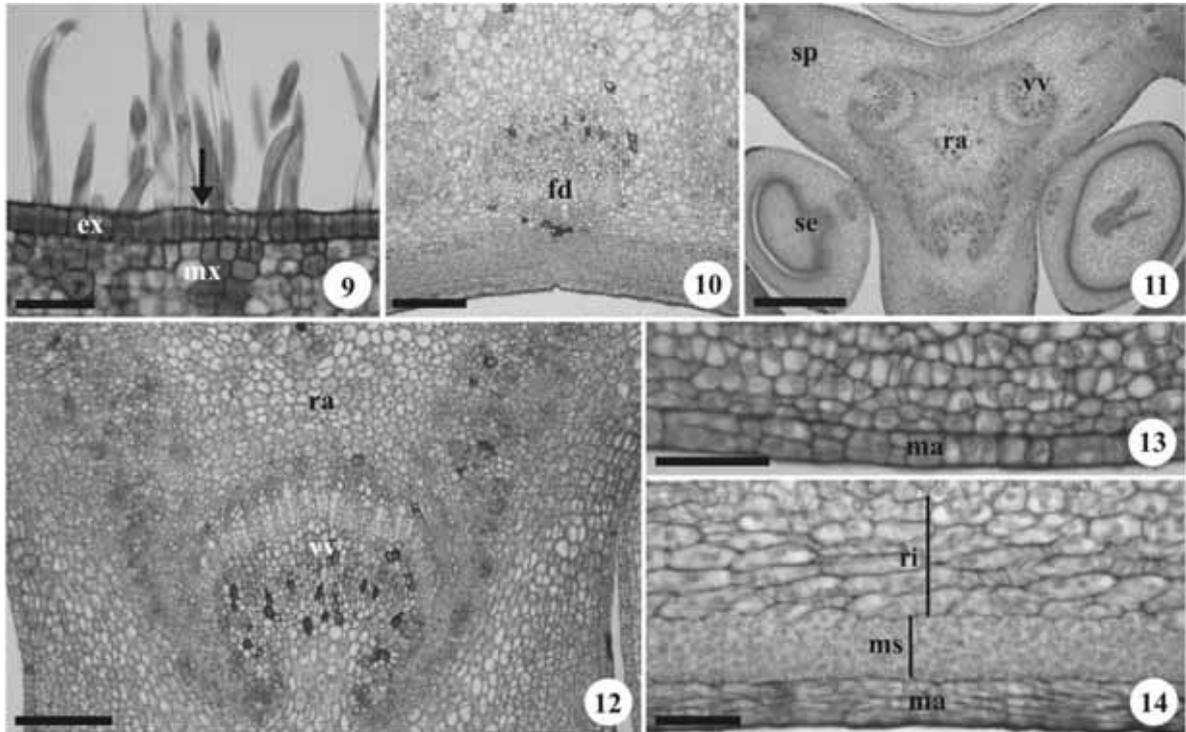
- PAOLI, A.A.S., FREITAS, L. & BARBOSA, J.M. 1995. Caracterização morfológica dos frutos, sementes e plântulas de *Croton floribundus* Spreng. e de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Sementes* 17:57-68.
- PIETROBOM, R.C.V. & OLIVEIRA, D.M.T. 2004. Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 27:767-779.
- ROGERS, D.J. & APPAN, S.G. 1973. *Manihot*, Manihotoides (Euphorbiaceae). *Flora Neotropica* 13:1-272.
- ROOSMALEN, M.G.M. 1985. Fruits of the guianan flora. Institute of Systematic Botany, Utrecht University, Utrecht.
- ROTH, I. 1977. Fruits of Angiosperms. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie).
- SASS, J.E. 1951. Botanical microtechnique. 2nd ed. Iowa State University Press, Ames.
- SINGH, R.P. 1954. Structure and development of seeds in Euphorbiaceae: *Ricinus communis* L. *Phytomorphology* 4:118-123.
- SINGH, R.P. 1969. Structure and development of seeds in *Euphorbia helioscopia*. *Botanical Magazine Tokyo* 82:287-293.
- SINGH, R.P. & CHOPRA, S. 1970. Structure and development of seeds in *Croton bonplandianum*. *Phytomorphology* 20:83-87.
- SOUZA, L.A. 1984. Anatomia do desenvolvimento do pericarpo de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassler (Leguminosae – Faboideae). *Revista Unimar* 6:5-19.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2005. Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Editora Plantarum, Nova Odessa.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 1998. Ovules and seeds in Crotonoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 120:165-186.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2002. Ovules and seeds in Euphorbioideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Journal of Plant Research* 115:361-374.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2003. Ovules and seeds in Acalyphoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Journal of Plant Research* 116:355-380.
- TOLEDO, A.P. 1963. Anatomia e desenvolvimento ontogenético do fruto e da semente de mandioca. *Bragantia* 22:LXXI-LXXVI.
- TUKEY, H.B. & YOUNG, J.O. 1939. Histological study of the developing fruit of the sour cherry. *Botanical Gazette* 100:723-749.

- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1991. Trends in the evolution of dicotyledons seeds based on character associations, with special reference to pachycalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* 105:211-237.
- WEBSTER, G.L. 1956. A monographic study of the West Indian species of *Phyllanthus*. *Journal of the Arnold Arboretum* 37:91-268.
- WEBSTER, G.L. 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:33-144.

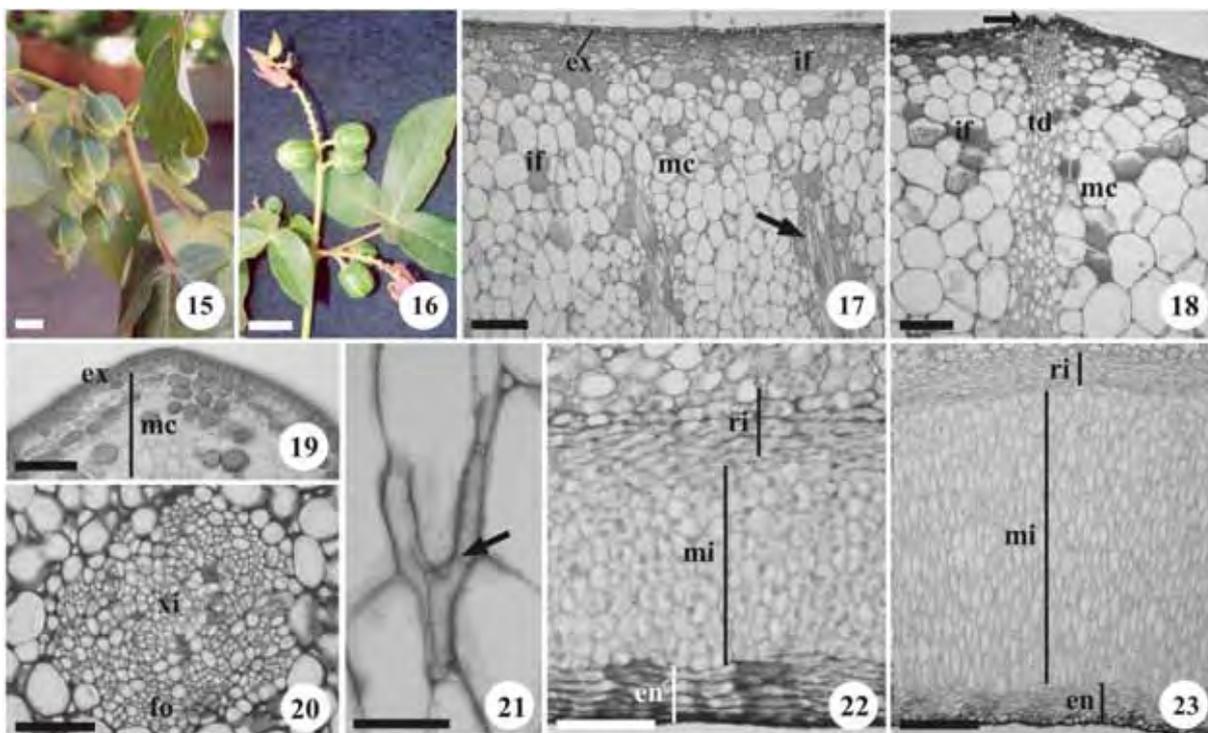
FIGURAS



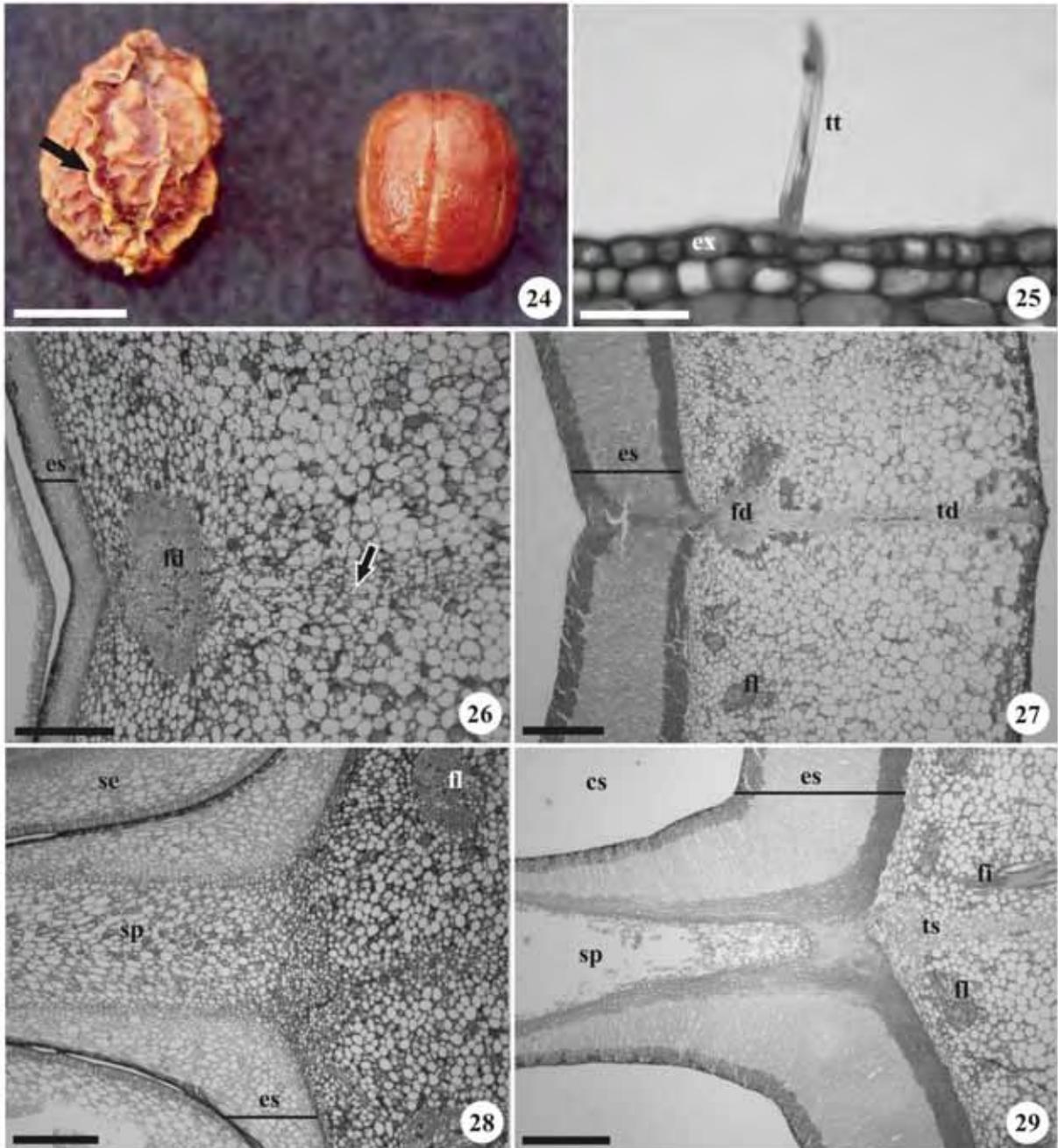
Figuras 1-8. Estágio I. Estrutura do ovário de *Manihot caerulescens* Pohl. (1-2, 4, 6-8) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (3, 5). Secções longitudinais (4, 8). Secções transversais (2-3, 5-7). 1. Aspecto geral do gineceu, após remoção das sépalas de flor pistilada (asterisco = base de uma sépala). 2-3. Vista geral, evidenciando, respectivamente, contorno mais anguloso e tendendo a circular. 4. Aspecto geral da parede ovariana. 5. Detalhe da epiderme externa e de parte do mesofilo, destacando tricoma tector unicelular e estômato (ponta de seta). 6. Vista geral da região axial, mostrando os seis feixes ventrais individualizados. 7. Detalhe da figura anterior, destacando os dois feixes ventrais de carpelos adjacentes. 8. Porção interna do mesofilo e epiderme interna unisseriada, mostrando as primeiras divisões periclinais (seta). (cp = cordão procambial; ee = epiderme externa; et = estigma; fd = feixe dorsal; fv = feixe ventral; if = idioblasto fenólico; in = epiderme interna; me = mesofilo; ov = óvulo; pl = projeção lateral; sp = septo; tt = tricoma tector). Barras = 2 mm (1-3), 100 μ m (4, 7), 50 μ m (5, 8), 150 μ m (6).



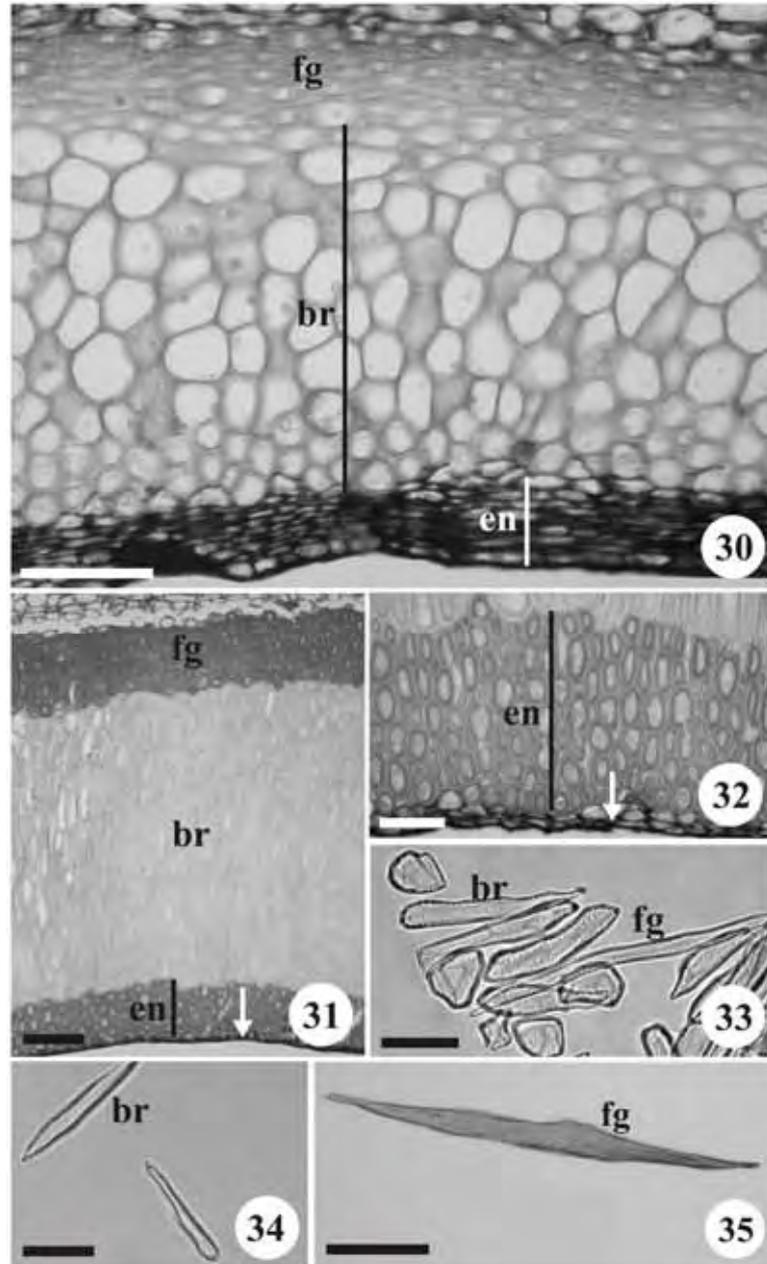
Figuras 9-14. Estágio II. Início de desenvolvimento do fruto de *Manihot caerulea* Pohl. (13-14) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (9-12). Seções longitudinais (9, 13-14). Seções transversais (10-12). 9. Detalhe do exocarpo, evidenciando tricomas tectores unicelulares (seta = divisões anticlinais), e do mesocarpo externo. 10. Aspecto da região dorsal, evidenciando amplo feixe. 11. Vista da região axial, mostrando as três unidades vasculares ventrais resultantes da união de feixes feita pelo câmbio entre carpelos adjacentes. 12. Detalhe da figura anterior. 13. Detalhe da porção interna do pericarpo jovem, mostrando o meristema adaxial com numerosas divisões periclinais. 14. Detalhe da região interna do mesocarpo mediano e do mesocarpo interno, o qual constitui o meristema subadaxial. (ex = exocarpo; fd = feixe dorsal; ma = meristema adaxial; ms = meristema subadaxial; mx = mesocarpo externo; ra = região axial; ri = região mais interna do mesocarpo mediano; se = semente; sp = septo; vv = vascularização ventral). Barras = 500 µm (11), 150 µm (10, 12), 50 µm (9, 13-14).



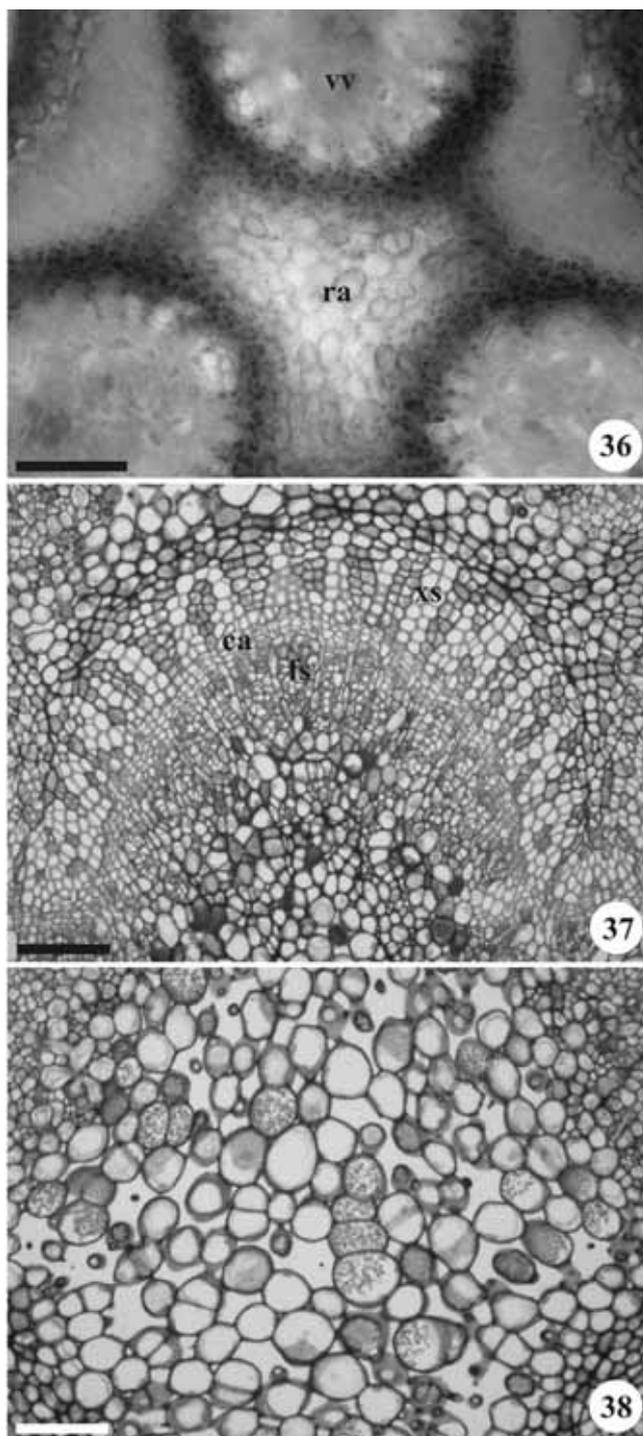
Figuras 15-23. Estágio III. Fruto de *Manihot caerulescens* Pohl. (15, 19-20) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (16-18, 21-23). Secção longitudinal (17). Secções transversais (18-23). 15-16. Ramos contendo frutos jovens. 17. Aspecto do exocarpo unisseriado e mesocarpo jovem, com evidente acúmulo de células fenólicas; notar células intensamente alongadas inseridas no mesocarpo (seta). 18. Detalhe da região dorsal, destacando o tecido de separação; notar pequena reentrância encontrada no exocarpo na região dorsal (seta). 19. Teste histoquímico com Sudan IV, evidenciando a cutícula espessa no exocarpo. 20. Detalhe de feixe lateral do tipo ancicrival do mesocarpo. 21. Detalhe do laticífero articulado e ramificado (seta = articulação). 22-23. Detalhe da região interna do mesocarpo mediano, do mesocarpo interno e do endocarpo com vários estratos celulares, respectivamente no início e no final deste estágio. (en = endocarpo; ex = exocarpo; if = idioblasto fenólico; fo = floema; mc = mesocarpo; mi = mesocarpo interno; ri = região mais interna do mesocarpo mediano; td = tecido de separação na região dorsal; xi = xilema). Barras = 15 mm (15-16), 150 µm (17-18, 23), 100 µm (19-20, 22), 50 µm (21).



Figuras 24-29. Estágio IV. Fruto em maturação de *Manihot caerulescens* Pohl. (24 à esquerda, 26, 28) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (24 à direita, 25, 27, 29). Secções transversais (25-29). 24. Frutos maduros (seta = projeção lateral). 25. Detalhe do exocarpo, evidenciando tricoma tector e cutícula espessa, e de parte do mesocarpo externo. 26. Região dorsal; notar tecido parenquimático mais frouxo em direção ao feixe dorsal (seta) e a pequena espessura do estrato esclerenquimático. 27. Região dorsal, destacando evidente tecido de separação e amplo estrato esclerenquimático. 28-29. Região do septo. (cs = cavidade seminal; es = estrato esclerenquimático; ex = exocarpo; fd = feixe dorsal; fi = fibras; fl = feixe lateral; se = semente; sp = septo; td = tecido de separação na região dorsal; ts = tecidos de separação; tt = tricoma tector). Barras = 1 cm (24), 500 μ m (26-29), 50 μ m (25).



Figuras 30-35. Estágio IV. Fruto em maturação de *Manihot caerulescens* Pohl. (30, 33) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (31-32, 34-35). Material dissociado (33-35). Secções transversais (30-32). 30. Detalhe do estrato esclerenquimático, composto por fibroesclereídes e braquiesclereídes mesocárpicas, acompanhado pelo endocarpo colenquimatoso. 31. Detalhe do estrato esclerenquimático, composto por fibroesclereídes e braquiesclereídes mesocárpicas e fibroesclereídes endocárpicas; notar a delgada região colenquimatoso mais interna (ponta de seta). 32. Detalhe das fibroesclereídes gelatinosas endocárpicas (ponta de seta = células colenquimatosas). 33-35. Detalhe das células componentes do estrato esclerenquimático. (br = braquiesclereídes; en = endocarpo; fg = fibroesclereídes gelatinosas). Barras = 300 μm (34), 150 μm (31), 100 μm (30, 33, 35), 50 μm (32).



Figuras 36-38. Estágio IV. Região axial do fruto de *Manihot caerulescens* Pohl. Secções transversais. 36. Vista geral de teste com lugol, evidenciando numerosos grãos de amido. 37. Detalhe do feixe ventral, mostrando a presença de câmbio e de xilema e floema secundários. 38. Detalhe do parênquima da região axial, destacando os nítidos espaços intercelulares. (ca = câmbio; fs = floema secundário; ra = região axial; vv = vascularização ventral; xs = xilema secundário). Barras = 100 μ m.

CAPÍTULO II

**Morfoanatomia e ontogênese das sementes de *Manihot caerulescens* Pohl. e
M. tripartita Müll. Arg. (Euphorbiaceae)⁵**

JONATHAS HENRIQUE GEORG DE OLIVEIRA⁶ e DENISE MARIA TROMBERT
OLIVEIRA^{7,8}

Título resumido: Semente de *Manihot caerulescens* e *M. tripartita*

-
5. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.
 6. UNESP – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu, SP, Brasil.
 7. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.
 8. Autor para correspondência: dmtoliveira@icb.ufmg.br

RESUMO – (Morfoanatomia e ontogênese das sementes em desenvolvimento de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae)). *Manihot caerulescens* e *M. tripartita*, espécies de Euphorbiaceae (Crotonoideae) conhecidas como mandioca-brava, ocorrem em fisionomias campestres de cerrado e, eventualmente, em cerradão. Não foram encontrados trabalhos sobre a estrutura seminal das referidas espécies, de modo que o presente trabalho foi realizado visando descrever a morfoanatomia e ontogênese das sementes de *M. caerulescens* e *M. tripartita*, bem como identificar as estruturas relacionadas à dispersão e verificar possíveis padrões morfológicos e anatômicos comuns às espécies estudadas e às demais Euphorbiaceae. Os óvulos são anátropos, pêndulos, bitegmentados e crassinucelados, típicos da família. A micrópila é constituída pelo exóstoma e endóstoma, obliterados por projeção do nucelo, que atravessa a micrópila e alcança o obturador. A partir da análise ontogenética das sementes de *M. caerulescens* e *M. tripartita*, confirma-se o padrão das Euphorbiaceae, especialmente quanto ao exotégmen unisseriado e muito desenvolvido, à presença de amplo endosperma na maturidade, com reserva de aleurona, e à morfologia geral do embrião. O exotégmen atinge, em *M. caerulescens*, aproximadamente quatro vezes a espessura de *M. tripartita*. O desenvolvimento do endosperma e do embrião é tardio, ou seja, o envoltório seminal diferencia-se enquanto o endosperma é escasso e nuclear, acompanhado pelo embrião globular. Em ambas as espécies, ocorrem carúnculas bem proeminentes. No envoltório seminal, destaca-se a ocorrência de endopaquicalaza do óvulo à semente madura, estrutura não relatada anteriormente para *Manihot*. Também se descreve o endosperma de formação mista, núcleo-celular, pela primeira vez registrado na literatura.

Palavras-chave – anatomia, *Manihot*, morfologia, ontogênese, semente

Introdução

No Brasil, as Euphorbiaceae são representadas por aproximadamente 70 gêneros e 1.000 espécies distribuídas ao longo de vários estados (Barroso *et al.* 1991, Souza & Lorenzi 2005), principalmente no Nordeste e em Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Rio de Janeiro (Rogers & Appan 1973).

De acordo com Webster (1994), são reconhecidas cinco subfamílias de Euphorbiaceae; contudo, dados mais recentes baseados em seqüências genéticas (APG II 2003), sugerem que a família seja dividida em apenas três subfamílias, abrangendo exclusivamente espécies que apresentam um único óvulo por lóculo, ou seja: Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae. De acordo com o “Angiosperm Phylogeny Group”, as outras

duas subfamílias devem ser agrupadas em famílias distintas, como Phyllanthaceae e Picrodendraceae.

A revisão da literatura revelou que são escassos os trabalhos realizados com órgãos reprodutivos de Euphorbiaceae. Mais raros ainda são os que detalham o desenvolvimento de óvulos e sementes, podendo-se citar Landes (1946), Singh (1954, 1969), Berg (1975), Corner (1976), Tokuoka & Tobe (1998, 2002, 2003).

Kapil & Bhatnagar (1994), estudando os caracteres embriológicos relacionados à taxonomia de Euphorbiaceae, inferiram que estes caracteres são úteis para a determinação de limites de táxons, especialmente de ordens e subfamílias, indicando afinidades quando duas ou mais possibilidades são duvidosas. Os autores afirmaram que, como a família é muito grande, estudos desta natureza ainda são escassos, visto que somente 16 das 49 tribos e cerca de 30 gêneros foram investigados mais detalhadamente.

De acordo com Kapil & Bhatnagar (1994), algumas características são extremamente importantes para o entendimento de Euphorbiaceae, como, por exemplo, a presença de obturador e de projeção do nucelo, que podem estar envolvidos com a nutrição do tubo polínico e atuar como guias em direção ao megagametofito. Outro caráter taxonômico importante, segundo os autores, é a presença da carúncula nas sementes.

Von Teichman & Van Wyk (1991) afirmaram que os óvulos e sementes, em geral, exibem uma grande riqueza que deve ser considerada na classificação das plantas. Os autores reconhecem, ainda, a falta de evidências ontogenéticas e descritivas destas estruturas, que promove dificuldades para se especular sobre tendências evolutivas que possam ter afetado as sementes. Assim, é cada vez maior a procura por informações a respeito de órgãos reprodutivos, de forma a complementar aquelas provenientes dos órgãos vegetativos.

Analisando as Euphorbiaceae, Corner (1976) descreveu que podem ser encontrados um ou dois óvulos por lóculo, os quais são anátropos, bitegmentados e crassinucelados, além de possuírem um obturador que se desenvolve antes mesmo da fecundação, bem como a carúncula, que se desenvolve durante a formação das sementes. O autor afirma que, além das sementes de Euphorbiaceae serem exotégmicas e paquicalazais, a micrópila é formada pelo exóstoma e endóstoma, os quais são freqüentemente obliterados por uma projeção do nucelo que alcança o obturador.

Para o presente trabalho, foram selecionadas *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae, Crotonoideae), ambas conhecidas popularmente como mandioca-brava. São espécies que ocorrem em fisionomias campestres de cerrado, cerrado típico e, eventualmente, em cerradão no estado de São Paulo (Durigan *et al.* 2004).

Das raras referências estruturais das espécies em estudo, Rogers & Appan (1973) descreveram que a carúncula de *M. caeruleascens* é bem proeminente e que a de *M. tripartita* é levemente proeminente; os autores não detalham sua estrutura, uma vez que não realizaram estudo anatômico. Mendonça (1983) promoveu um estudo sobre os laticíferos em órgãos vegetativos em *M. caeruleascens*, mostrando que os mesmos são articulados, assim como os ocorrentes em *Hevea* Aubl.

Levando em consideração, a relevância dos estudos estruturais das sementes e a carência de análises sobre órgãos reprodutivos de Euphorbiaceae, este trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: descrever a morfologia e anatomia dos óvulos e sementes de *M. caeruleascens* e *M. tripartita*, nas diversas fases do desenvolvimento; identificar e relacionar as estruturas das sementes relacionadas à dispersão; e verificar possíveis padrões morfológicos e anatômicos comuns às espécies estudadas e às demais Euphorbiaceae registradas na literatura.

Material e métodos

O material botânico estudado constou de óvulos de botões florais e flores em antese e de sementes em diversos estágios de desenvolvimento até a maturação. Coletas de vários indivíduos de *Manihot caeruleascens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. foram realizadas na Rodovia Geraldo Pereira de Barros nos km 167 e 170, próximo ao município de Botucatu, SP. Ramos férteis foram depositados no Herbário “Irina D. Gemtchujnicov” (BOTU) do Departamento de Botânica, UNESP, Câmpus de Botucatu, registrados respectivamente sob os números 25.202 e 20.090.

Os óvulos e sementes nas diferentes fases do desenvolvimento foram fixados em FAA 50 (Johansen 1940) por 48 horas, com passagem em bomba de vácuo; a conservação do material foi feita em álcool etílico 70% (Jensen 1962). Em seguida, o material botânico foi desidratado em série etílica e incluído em metacrilato Leica®, de acordo com as indicações do fabricante. Secções transversais e longitudinais seriadas foram realizadas em micrótomo rotativo, com espessura entre 8 e 12 µm, sendo coradas com azul de toluidina 0,05% em pH 4,7 (O’Brien *et al.* 1964) e montadas com Entellan®.

A porção lignificada do tegumento foi submetida à técnica de maceração proposta por Franklin (1945), modificada conforme sugerido por Kraus & Arduin (1997), montando-se lâminas semipermanentes com gelatina glicerinada (Dop & Gautié 1928).

Foram realizados testes histoquímicos para evidenciar algumas substâncias, utilizando-se: floroglucinol com adição de ácido clorídrico concentrado, para evidenciar paredes lignificadas (Sass 1951); Sudan IV, para a localização de substâncias lipídicas; lugol, para a

detecção de amido; cloreto férrico, para verificar a ocorrência de compostos fenólicos; ácido clorídrico a 10%, para confirmar a composição química de cristais (Johansen 1940); e ácido pícrico com adição de solução de eosina 1%, para evidenciar reservas protéicas sob a forma de grãos de aleurona (Oliveira & Saito 2000).

Os embriões das sementes maduras foram diafanizados pela técnica indicada por Fuchs (1963), para a observação da venação dos cotilédones; estas lâminas foram montadas em gelatina glicerinada (Dop & Gautié 1928).

Para a descrição dos resultados, utilizou-se a terminologia proposta por Martin (1946), Corner (1976), Hickey (1979), Werker (1997) e Barroso *et al.* (1999).

Após a análise do laminário sob microscópio de luz, os resultados foram documentados por meio de fotografias, fotomicrografias e desenhos. As dimensões das sementes foram mensuradas com paquímetro. Medidas comparativas da espessura do exotégmen das duas espécies foram realizadas utilizando régua e retículo micrométrico adaptado ao microscópio de luz.

Resultados

A estrutura dos óvulos e sementes nas espécies estudadas de *Manihot* segue um padrão de desenvolvimento muito constante. Sendo assim, as particularidades em relação a cada uma serão destacadas quando pertinente.

Estrutura do óvulo – os óvulos, únicos em cada lóculo, são pêndulos, anátropos, apresentam forma elíptica, placentação axial e micrópila voltada para o ápice do ovário. São óvulos sésseis, diretamente unidos à placenta (figura 1); observa-se um obturador placentário, que fica em contato com uma projeção do nucelo, a qual se estende além da micrópila (figuras 2-3).

No obturador, observam-se células epidérmicas cubóides e um pouco mais densas que as demais. Entre as células parenquimáticas, ocorrem numerosos idioblastos fenólicos (figura 1).

Os óvulos são bitegmentados e crassinucelados (figura 1). Em *M. caerulescens*, o tegumento externo é formado por aproximadamente oito camadas de células, enquanto que o interno por cerca de 15 camadas. Já em *M. tripartita*, o tegumento externo apresenta-se com cerca de cinco e o interno por volta de 12 estratos celulares (figura 4). A micrópila de ambas as espécies é delimitada pelos dois tegumentos, estando o exóstoma e o endóstoma em linha reta, margeando a projeção do nucelo (figura 3).

Os tegumentos de ambas as espécies são recobertos por uma delgada cutícula. As células dos dois tegumentos são muito semelhantes, distinguindo-se as epidermes externa e interna de cada um deles, com células mais irregulares e vacuoladas na epiderme externa do tegumento externo; as demais camadas dérmicas apresentam células cubóides, de paredes celulares delgadas, citoplasma denso e núcleos localizados na posição central (figura 4). O mesofilo de ambos os tegumentos é parenquimático, ocorrendo alguns idioblastos fenólicos no mesofilo do tegumento externo. A camada mais destacada é a epiderme interna do tegumento interno das duas espécies, que mostra ligeiro alongamento radial (figura 4).

O nucelo é amplo, de natureza parenquimática, delimitado por epiderme unisseriada e cuticularizada, com células cubóides de paredes delgadas, amplamente vacuoladas e núcleos centralizados, recobrindo células maiores e de formatos mais irregulares (figura 5). A porção do nucelo que se projeta para o exterior do óvulo, atravessando a micropila, é espessa e composta por células similares às demais (figura 3).

A vascularização do óvulo é feita por um feixe colateral, que percorre a rafe no tegumento externo (figuras 1, 6) e, em seguida, penetra na calaza (figuras 7-8), enviando ramificações para o tegumento interno (figuras 9-13), caracterizando a endopaquicalaza. Nesta condição, o tegumento interno está restrito à porção mais apical do óvulo, próximo à micropila. Em *M. caerulescens*, o tegumento interno representa aproximadamente 14,6% do comprimento total da semente, enquanto que representa cerca de 21,3% em *M. tripartita*. Já a endopaquicalaza representa pouco mais de 77% do comprimento do óvulo na primeira espécie, passando a cerca de 72% em *M. tripartita*. A endopaquicalaza é amplamente vascularizada, formando um anel com aproximadamente 14 feixes vasculares ao redor do nucelo (figuras 12-13).

Semente em desenvolvimento – os eventos ocorrem de modo similar nas duas espécies, embora em *M. caerulescens* o desenvolvimento do exotégmen inicia-se um pouco mais cedo.

A carúncula é originada a partir de divisões de células provenientes do ápice do tegumento externo, vizinhas ao exóstoma. A testa e o tégmen são multiplicativos nas duas espécies, em função das divisões periclinais, que ocorrem especialmente próximas à endotesta e ao endotégmen (figura 14). Nesta fase, ocorrem várias alterações por toda a semente. Em seguida, verifica-se o início do alongamento anticlinal nas células que compõem o exotégmen, o qual se inicia nas porções calazal (figura 15) e micropilar simultaneamente. O alongamento prossegue, atingindo as demais células exotégmicas (figura 16), compondo a

camada mais evidente dos tegumentos. Posteriormente, estas células exibem uma curvatura, assumindo a forma oblíqua (figura 17).

Na seqüência do desenvolvimento, o mesotégmen inicia acentuado aumento de espessura, produto das divisões celulares inicialmente ocorridas (figura 14) e do intenso alongamento celular (figura 17). As divisões periclinais no mesotégmen próximas ao endotégmen prosseguem (figura 18) e, embora estas células também aumentem um pouco em volume, mantêm-se como as menores e mais densas do mesotégmen (figura 19).

Simultaneamente, ocorre ligeiro alongamento, também anticlinal, das células do endotégmen, que exibem grande densidade citoplasmática (figura 18). A epiderme do nucelo também adquire leve alongamento radial (figura 18), enquanto este tecido vai sendo consumido centrifugamente (figura 19).

Após estes eventos, ocorrem divisões anticlinais na exotesta e, em seguida, um leve alongamento no mesmo sentido das divisões; além dessas células, observou-se a presença de estômatos na exotesta (figura 20).

A projeção do nucelo torna-se rica em grãos de amido e, com o desenvolvimento da semente, vai sendo reabsorvida, permanecendo somente resíduos pécticos nas proximidades da micrópila (figura 21).

O endosperma é nuclear, apresentando os núcleos livres por longo período de tempo (figuras 22-23); ao final do estágio de crescimento da semente, os núcleos livres dispõem-se periféricamente (figura 19), iniciando-se o processo de celularização (figura 24). Mesmo nesta fase bem adiantada do desenvolvimento da semente, o embrião é ainda inconspícuo.

Na região calazal, observam-se células com leve espessamento parietal e ligeiro acúmulo de substâncias fenólicas, localizadas entre a calaza e o nucelo; trata-se de uma hipóstase pouco conspícua, mas evidente (figura 25).

Com o desenvolvimento da semente, o tégmen passa a abranger cerca de 8% do comprimento total em *M. caerulescens*, e aproximadamente 6% em *M. tripartita*; o aumento de tamanho da semente é devido, portanto, à ativa proliferação da região endopaquicalazal. Além de apresentar muitas divisões celulares, a endopaquicalaza é caracterizada, em ambas as espécies, pela maior parte da vascularização do envoltório seminal.

Semente em maturação – As sementes apresentam, em média, as seguintes dimensões (comprimento, largura e espessura): *M. caerulescens* exibe 1,45, 1,0 e 0,72 cm respectivamente, enquanto que *M. tripartita* apresenta 1,3, 0,64 e 0,45 cm.

As sementes maduras, de forma elipsóide em ambas as espécies, apresentam coloração amarronzada, podendo mostrar algumas manchas claras e escuras por todo o tegumento (figura 26). O envoltório da semente madura é formado pela endopaquicalaza, pelo tégmen, destacando-se o exotégmen, que confere a rigidez ao envoltório, e resíduos do mesotégmen, uma vez que o endotégmen é comprimido e a testa vai sendo descamada da semente.

A rafe é bem demarcada nas duas espécies, mostrando coloração diferenciada do restante do tegumento. Na extremidade micropilar dessas sementes, está presente uma carúncula, a qual contorna o hilo circular e envolve a micrópila, não visível a olho nu. Bem próximo ao ápice, a carúncula apresenta algumas reentrâncias e observa-se que ela é bilobada ao nível da micrópila (figura 26). Nas duas sementes, a carúncula é bem proeminente, contudo é bem mais pronunciada em *M. tripartita*, podendo atingir, em média, 37% do comprimento total da semente, contra cerca de 20% em *M. caerulescens*.

A carúncula é composta por epiderme cuticularizada, com células alongadas anticlinalmente, recobrimdo o parênquima também de células alongadas (figura 27); vários idioblastos com acúmulo de substâncias fenólicas podem ser observados. Na carúncula da semente madura, observam-se também várias drusas (figura 28), em maior número em *M. caerulescens*. Além de cristais, esta estrutura acumula também reserva de natureza lipídica.

Na seqüência da maturação, as células da exotesta vão apresentando certo espessamento das paredes nas duas espécies, um pouco mais acentuado em *M. tripartita* (figuras 29-31).

As células da mesotesta passam a envolver muitos espaços intercelulares e, em *M. caerulescens*, ficam achatadas periclinalmente (figura 29); em *M. tripartita*, as células da mesotesta ficam mais arredondadas externamente e adquirem certo alongamento tangencial na porção interna (figuras 30-31). Foram evidenciados pequenos cristais de oxalato de cálcio na mesotesta das duas espécies.

A endotesta de ambas as espécies mostra alongamento anticlinal, mais acentuado em *M. caerulescens*. São células vacuoladas e sem espessamentos parietais (figuras 29-31), com núcleos localizados na região central das células.

A camada que mais apresenta diferenciação por todo o tegumento da semente é o exotégmen, que se diferencia na camada mecânica do tegumento (figuras 29-32). Embora

essas células paliçádicas oblíquas comecem seu alongamento anticlinal pelas regiões da calaza e da micrópila, as células laterais são mais intensamente alongadas, ultrapassando o tamanho das primeiras (figura 32). Os núcleos, também alongados anticlinalmente, permanecem localizados na porção central das células.

Nesta fase, as células exotégmicas formam paredes bem espessadas e lignificadas, com numerosas pontoações simples. Muitas células também acumulam compostos fenólicos no lume reduzido. Em *M. caerulescens*, o alongamento anticlinal é mais pronunciado, de modo que esta camada pode, nas laterais da semente, alcançar até 137 μm de espessura; em *M. tripartita*, o alongamento é bem menos acentuado, contudo não deixa de ser expressivo, chegando a 30 μm de espessura.

Em *M. caerulescens*, o mesotégmen apresenta-se com células grandes, sem nenhum tipo de impregnação em suas paredes celulares, sendo bem vacuoladas (figura 32); seus núcleos são observados perifericamente. Já em *M. tripartita*, as células que compõem a região mais interna do mesotégmen, mostram-se achatadas, podendo haver ruptura na região mediana (figura 31). Foram observados alguns cristais de oxalato de cálcio, além de acentuada reserva amilácea na porção mais interna do mesotégmen das duas espécies.

A semente diferencia todo o envoltório seminal para depois ocorrer ampliação do endosperma e desenvolvimento do embrião (figura 33). Também em ambas as espécies, completa-se a reabsorção do nucelo, enquanto o endosperma prolifera; enquanto o embrião é ainda cordiforme, células nucelares residuais podem ser observadas junto à região calazal e à micropilar, onde também se evidenciam resquícios da projeção que atravessava a micrópila (figura 33).

Ao final do período de maturação das sementes, o endotégmen apresenta-se comprimido (figuras 31-33).

Próximo à maturidade da semente, chama a atenção a intensa proliferação do endosperma. Após a diferenciação do envoltório seminal, observa-se de uma a duas camadas de endosperma, composto por células cubóides e de paredes muito delgadas, formadas pela celularização dos núcleos livres (figura 34). A partir daí, inicia-se a ocorrência de numerosas divisões periclinais destas células (figuras 34-36), produzindo amplas séries radiais de células (figura 37). Mesmo entre regiões já mais diferenciadas do endosperma, divisões periclinais esparsas ainda são observadas (figuras 38-39), caracterizando o endosperma de formação mista, inicialmente nuclear e, posteriormente, com ampla proliferação de modo celular, aqui denominado tipo núcleo-celular. Na maturidade, o endosperma representa a maior porção da

semente (figura 40) e apresenta abundante reserva lipídica e protéica, esta constituída por grãos de aleurona (figura 41), sendo também encontrados alguns cristais de oxalato de cálcio.

O embrião maduro das duas espécies é muito semelhante, mostrando dois cotilédones planos e foliáceos, muito delgados, além de eixo hipocótilo-radícula cônico e curto, sem epicótilo e plúmula diferenciados (figura 40). Os cotilédones são sésseis (figuras 42-43) e apresentam consistência membranácea e lâmina simétrica, de forma elíptica, ápice arredondado com margem inteira e base ligeiramente cordada (figuras 42-43). A venação é acródroma, de posição basal e desenvolvimento imperfeito; as nervuras primárias são fortes (2,5%), de curso reto e não ramificadas; os ângulos de divergência das nervuras secundárias são moderados, raramente largos, uniformes (figura 43). Em todo o embrião, as células possuem grande densidade e existem pequenos e numerosos cristais de oxalato de cálcio (figura 44).

Discussão

De modo geral, as sementes de Euphorbiaceae apresentam um padrão estrutural bastante homogêneo. As observações feitas neste trabalho para *M. caerulea* e *M. tripartita* corroboram os dados de vários autores, dentre eles Corner (1976), Cordeiro (1992), Webster (1994) e Barroso *et al.* (1999), que descreveram os óvulos de Euphorbiaceae como anátropos, pêndulos, bitegmentados, crassinucelados, com presença de obturador e semente com carúncula e rafe bem demarcada.

Alguns autores, dentre eles Graner (1935), Singh (1954, 1969) e Toledo (1963), relataram que o obturador ou projeções do mesmo, crescem em direção à micrópila, podendo penetrá-la. Berg (1975), estudando espécies de *Micranthemum*, observou projeções do obturador, sob a forma de tricomas, que se estendem preenchendo todo o ápice do lóculo e, às vezes, penetrando na micrópila.

Por outro lado, outros autores afirmaram que há, em Euphorbiaceae, uma projeção do nucelo que se estende para fora da micrópila, atravessando os tegumentos (Landes 1946, Kapil & Bhatnagar 1994). Kapil & Bhatnagar (1994) relataram que esta projeção ocorre em vários gêneros das cinco subfamílias de Euphorbiaceae, e tanto o obturador quanto a projeção nucelar estão supostamente envolvidos com a nutrição do tubo polínico, bem como com o ato de guiar o mesmo até o saco embrionário. A hipótese de nutrição merece ser levada em consideração, uma vez que, em ambas as espécies estudadas de *Manihot*, foi encontrada grande reserva amilácea na projeção nucelar, também relatada por Rao & Rao (1976) para a mandioca.

Kapil & Bhatnagar (1994), em estudo sobre embriologia de Euphorbiaceae, observaram que, caso ocorra uma redução na projeção do nucelo, o obturador se torna mais desenvolvido, e, nos casos em que o nucelo se projeta acentuadamente, o obturador é reduzido e suas células apresentam-se compactas. Segundo os autores, a presença de projeção nucelar nas Euphorbiaceae parece representar um caráter ancestral. Singh (1954), estudando o desenvolvimento de sementes de *R. communis*, mostrou que o ápice do nucelo apresenta-se de forma cônica, o qual nunca se estende além da base do endóstoma, não existindo projeção do nucelo através da micrópila.

No material estudado, do óvulo até o início da maturação da semente, prevalecem células de paredes delgadas. Ao final deste período, as sementes mostram-se exotégmicas, segundo nomenclatura proposta por Corner (1976), visto que o exotégmen exibe um acentuado espessamento parietal com impregnação de lignina.

O alongamento anticlinal do exotégmen também segue o padrão descrito na literatura para as Euphorbiaceae, em que essas células alongam-se muito e, concomitantemente, vão adquirindo certa curvatura, tornando-se oblíquas ao final do desenvolvimento. Apesar da diferenciação ser homogênea entre as espécies, desperta a atenção a diferença de espessura da camada, aproximadamente quatro vezes maior em *M. caerulescens*.

Rogers & Appan (1973), estudando o gênero *Manihot*, relataram que a carúncula e a semente como um todo variam em dimensão e forma, e que estas características podem ser utilizadas na identificação das espécies. Segundo os referidos autores, a carúncula de *M. caerulescens* é bem proeminente e a de *M. tripartita* é levemente proeminente. Este não foi, porém, o resultado encontrado no presente trabalho, que verificou que a carúncula de *M. tripartita* representa até 37% do comprimento total da semente, sendo mais proeminente que a de *M. caerulescens*, que atinge somente cerca de 20%.

Lisci *et al.* (1996), em trabalho sobre elaiossomos de algumas espécies de Angiospermas, afirmaram que a carúncula de *Ricinus communis* não apresenta cutícula, contrariamente ao observado nas duas espécies em estudo, que exibiram cutícula evidente, destacada pelo teste com Sudan IV. Sernander (1906) propôs o termo elaiossomo para indicar uma parte da semente, carnosa e comestível, que atrai formigas. Tanto na carúncula de *M. caerulescens* quanto na de *M. tripartita*, existe reserva lipídica, que indica que a estrutura possa estar relacionada à mimercocoria.

Ainda de acordo com os dados de Lisci *et al.* (1996), a carúncula tem a função de auxiliar a dispersão das sementes por formigas, induzir a dormência e também absorver água

do solo, passando para o embrião durante a germinação da semente. Bianchini & Pacini (1996), em experimentos com sementes de *R. communis*, relataram que a carúncula nesta espécie ainda está envolvida no processo de desidratação, reidratação e germinação, uma vez que sementes com a referida estrutura perderam e absorveram água mais rapidamente que sementes sem carúncula, além de germinarem mais rapidamente que sementes que tiveram a estrutura removida. O papel da carúncula nas sementes das espécies estudadas de *Manihot* precisa ser experimentalmente avaliado, já que *R. communis* não tem carúncula cuticulada e as espécies aqui estudadas têm.

Corner (1976) e Tokuoka & Tobe (1998) relataram que as sementes de vários gêneros de Crotonoideae (Euphorbiaceae) não são paquicalazais, como ocorre em *Croton*, *Hevea*, *Jatropha* e *Manihot*, por exemplo. Contradizendo o que estes autores afirmaram, as sementes de *M. caerulescens* e *M. tripartita*, possuem calaza muito expressiva, caracterizada pelo desenvolvimento endopaquicalazal, uma vez que a região do tegumento interno é penetrada pelo feixe rafeal, que apresenta ampla ramificação. A presença de endopaquicalaza foi anteriormente registrada para *R. communis* (Corner 1976), espécie em que a estrutura mostra-se muito similar ao observado em *Manihot*.

Ainda com relação aos envoltórios seminais, merece destaque que as sementes das espécies estudadas crescem por meio de proliferação mais ativa da endopaquicalaza, aspecto também observado por Landes (1946) para *Acalypha rhomboidea*.

A presença de hipóstase pouco conspícua, como a encontrada nos óvulos de *M. caerulescens* e *M. tripartita*, foi relatada anteriormente por Singh & Chopra (1970) para *Croton bonplandianum*, por Berg (1975) para espécies de *Micrantheum* e por Landes (1946) para *Acalypha rhomboidea*. O caráter freqüente é bem disperso entre as Euphorbiaceae, visto que os gêneros referidos na literatura pertencem a três das cinco subfamílias descritas por Webster (1994), respectivamente Crotonoideae, Oldfieldioideae e Acalyphoideae. A carência de estudos anatômicos detalhados pode explicar a ausência de relatos para Phyllanthoideae e Euphorbioideae, sendo necessária a ampliação do número de espécies estudadas para se tecerem generalizações.

De acordo com Corner (1976), o endosperma das Euphorbiaceae é nuclear, apresentando no início de seu desenvolvimento apenas núcleos livres, com um ou vários nucléolos. Com o desenvolvimento da semente, o endosperma dessas sementes torna-se celularizado, como também relatado por Landes (1946), Singh (1954, 1969), Toledo (1963), Berg (1975) e Kapil & Bhatnagar (1994).

Segundo Kapil & Bhatnagar (1994), as primeiras divisões nucleares do endosperma começam antes da formação do zigoto, após a fecundação. A celularização é iniciada quando o proembrião está no estágio globular ou cordiforme e, geralmente, é iniciada na região micropilar, estendendo-se ao longo da periferia do megagametofito em direção à calaza. A formação das paredes ocorre de forma centrípeta.

Nas duas espécies aqui analisadas, observa-se a formação inicial do endosperma de modo nuclear, como relatado pelos autores supracitados, iniciando a celularização na região micropilar, com expansão periférica e em direção ao pólo calazal. Contudo, após a celularização dos núcleos livres, instala-se um processo inédito para a literatura: as células endospérmicas produzidas periféricamente, justapostas a resíduos nucleares, constituem um meristema que, por meio de numerosas divisões periclinais, forma longas e nítidas fileiras radiais de células. São estas células que compõem o amplo endosperma que persiste nas sementes maduras de *M. caerulescens* e *M. tripartita*. Deste modo, o endosperma das espécies estudadas deve ser enquadrado como um tipo misto, propondo-se aqui o tipo núcleo-celular. A literatura registra que o endosperma pode ser do tipo nuclear, celular ou helobial (Vijayaraghavan & Prabhakar 1984, Gifford & Foster 1989, Werker 1997). O processo observado nas espécies de *Manihot* estudadas difere de todos os descritos anteriormente, já que o endosperma helobial, considerado um processo intermediário por Werker (1997), apresenta, inicialmente, uma divisão celular que inclui a citocinese, seguindo-se diversas cariocineses que formam núcleos livres, posteriormente celularizados, como descrito por Gifford & Foster (1989). Portanto, o processo núcleo-celular observado em *Manihot* registra um novo tipo de formação de endosperma, nunca antes relatado na literatura.

Na maturidade, o endosperma de *M. caerulescens* e *M. tripartita* mostra células de paredes delgadas, que acumulam ampla reserva de origem lipídica e protéica, esta encontrada sob a forma de grãos de aleurona, corroborando os dados de Berg (1975).

Singh (1954) relatou que o desenvolvimento do embrião de *Ricinus communis* começa depois da formação dos núcleos livres do endosperma, diferenciando-se antes que o endosperma se torne completamente celular. Em ambas as espécies estudadas, o desenvolvimento do endosperma e do embrião só ocorre depois de toda a diferenciação do envoltório da semente; o envoltório apresenta, assim, importante função de proteção para a ontogênese seminal.

Com relação ao embrião encontrado nas sementes maduras das espécies em estudo, verifica-se o padrão geral relatado para a família (Webster 1994), ou seja, eixo hipocótilo-radícula curto e cônico, de plúmula indiferenciada, unido a cotilédones planos e

foliáceos. De acordo com Martin (1946), os embriões de *M. caerulea* e *M. tripartita* são pequenos, axiais e enquadram-se no tipo espatulado. Utilizando-se a classificação de Barroso *et al.* (1999), são também ditos axiais, mas são contínuos, do tipo espatulado.

Agradecimentos – Ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida a J.H.G. de Oliveira e pela bolsa de produtividade em pesquisa de D.M.T. Oliveira; à FAPESP-Programa BIOTA (Proc. 00/12469-3), pelo auxílio financeiro; à Dra. Inês Cordeiro pela identificação das espécies e ao Sr. Clemente José Campos pela localização das plantas e auxílio nas primeiras coletas.

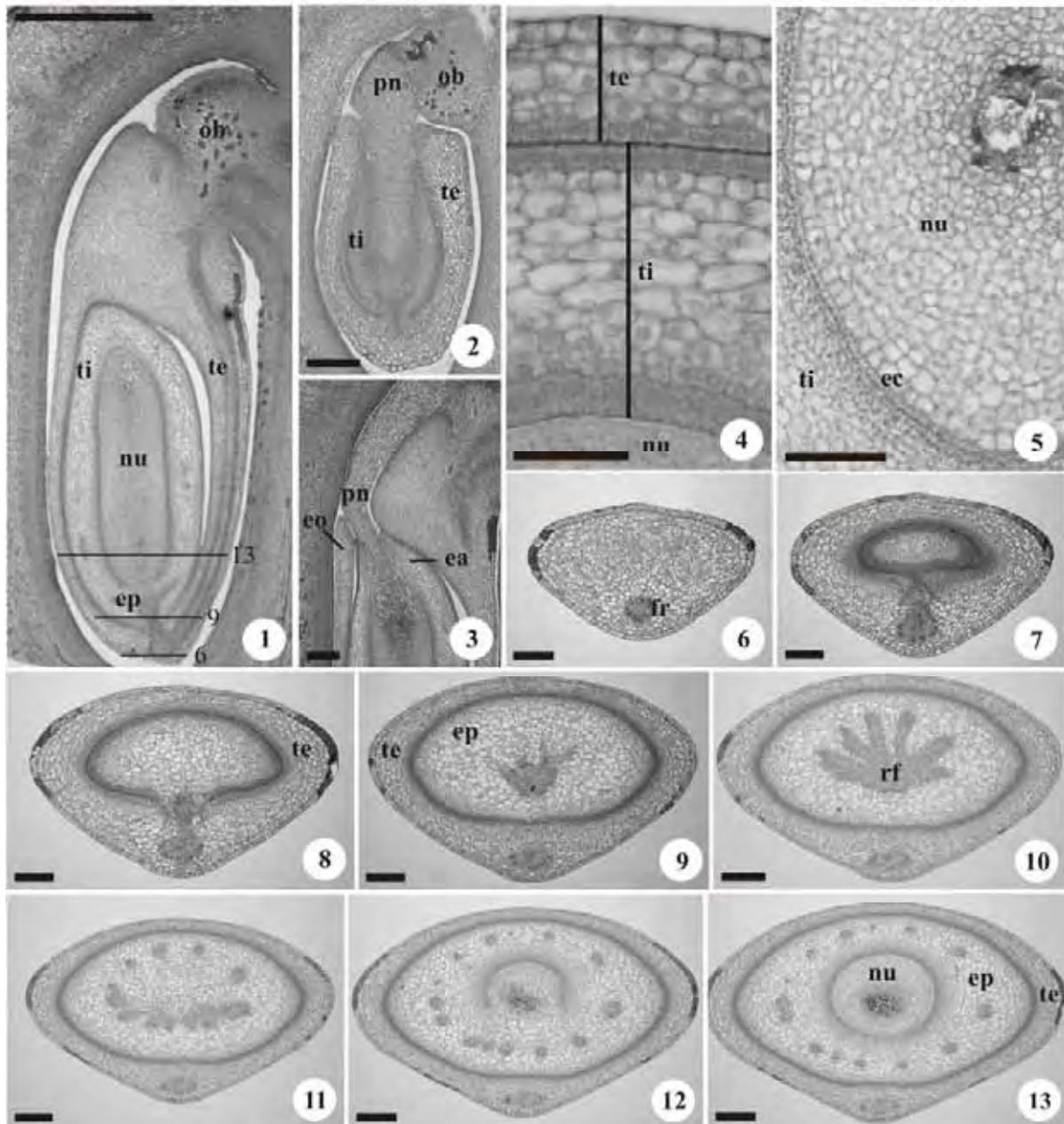
Referências bibliográficas

- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- BARROSO, G.M., PEIXOTO, A.L., COSTA, C.G., ICHASO, C.L.F., GIMARÃES, E.F. & LIMA, H.C. 1991. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Imprensa Universitária, Viçosa.
- BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Editora UFV, Viçosa.
- BERG, R.Y. 1975. Fruit, seed, and myrmecochorous dispersal in *Micrantheum* (Euphorbiaceae). *Norwegian Journal of Botany* 22:173-194.
- CORDEIRO, I. 1992. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Euphorbiaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 13:169-217.
- BIANCHINI, M. & PACINI, E. 1996. The caruncle of *Ricinus communis* L. Its development and role in seed dehydration, rehydration and germination. *International Journal of Plant Science* 157:40-48
- CORNER, E.J.H. 1976. *The seeds of dicotyledons*. 2v. University Press, Cambridge.
- DOP, P. & GAUTIÉ, A. 1928. *Manuel de technique botanique*. J. Lamane, Paris.
- DURIGAN, G., BAITELLO, J.B., FRANCO, G.A.D.C. & SIQUEIRA, M.F. 2004. *Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada*. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.
- FRANKLIN, G.L. 1945. Preparation of thin section of the synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155:51.
- FUCHS, C.H. 1963. Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. *Stain Technology* 38:141-144.

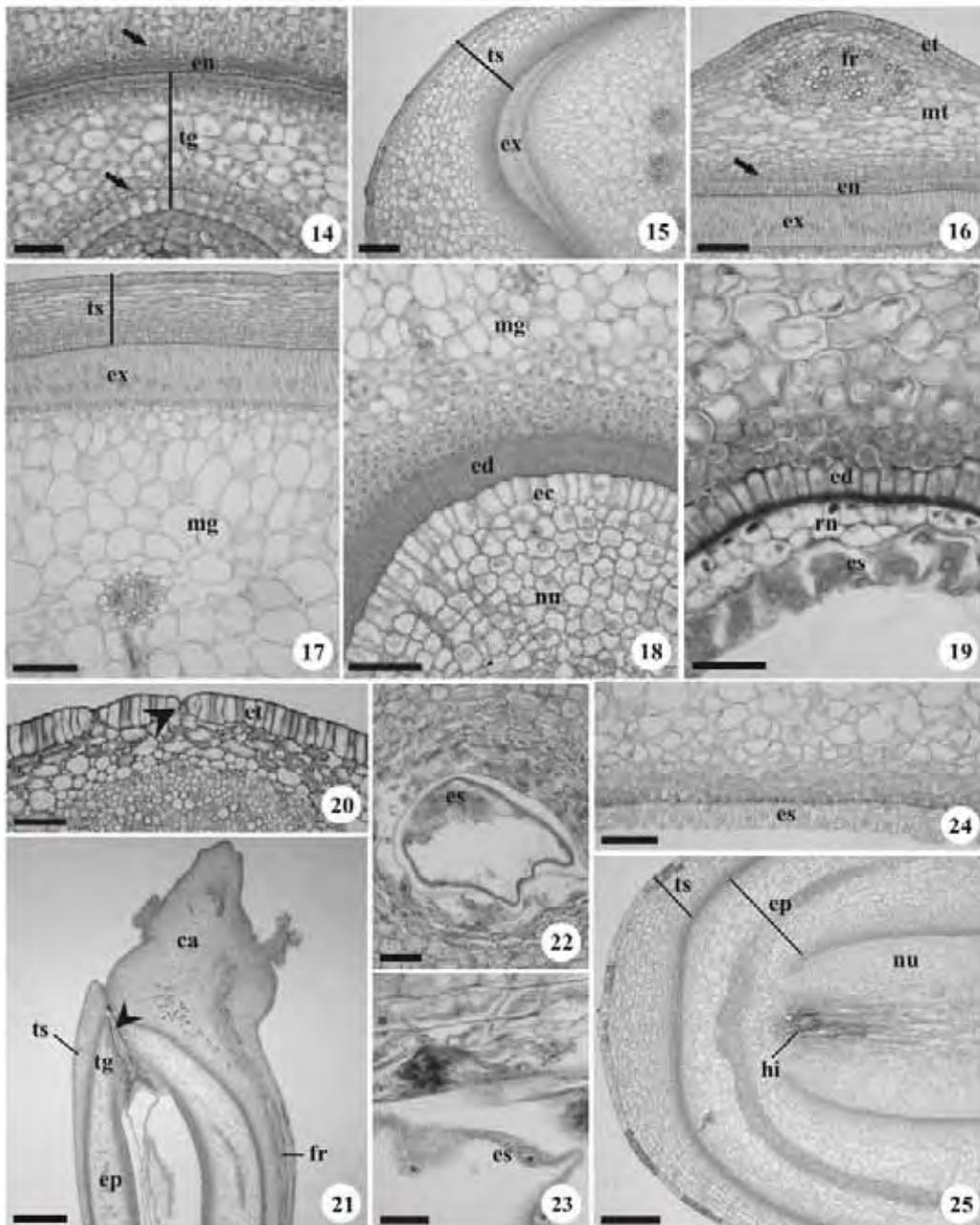
- GIFFORD, E.M. & FOSTER, A.S. 1989. Morphology and evolution of vascular plants. 3rded. W.H. Freeman and Company, New York.
- GRANER, E.A. 1935. Contribuição para o estudo citológico da mandioca. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- HICKEY, L.J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *In* Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject (C.R. Metcalfe & L. Chalk, eds.). 2nded. Clarendon Press, Oxford, p.25-39.
- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W.H. Freeman, San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book, New York.
- KAPIL, R.N. & BHATNAGAR, A.K. 1994. The contribution of embryology to the systematics of the Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:145-159.
- KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. 1997. Manual básico de métodos em Morfologia Vegetal. EDUR, Seropédica.
- LANDES, M. 1946. Seed development in *Acalypha rhomboidea* and some other Euphorbiaceae. *American Journal of Botany* 33:562-568.
- LISCI, M., BIANCHINI, M. & PACINI, E. 1996. Structure and function of elaiosome in some Angiosperm species. *Flora* 191:131-141.
- MARTIN, A.C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. *The American Midland Naturalist* 3:513-660.
- MENDONÇA, M.S. 1983. Estudo de plantas laticíferas. I Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot caerulescens* Pohl. *Acta Amazonica* 13:501-517.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidin blue O. *Protoplasma* 59:368-373.
- OLIVEIRA, F. & SAITO, M.L. 2000. Práticas de morfologia vegetal. Ed. Atheneu, São Paulo.
- RAO, P.N. & RAO, D.S. 1976. Embryology of cassava. *Proceedings of the Indian National Science Academy* 42:111-116.
- ROGERS, D.J. & APPAN, S.G. 1973. *Manihot*, Manihotoides (Euphorbiaceae). *Flora Neotropica* 13:1-272.
- SASS, J.E. 1951. Botanical microtechnique. 2nded. Iowa State University Press, Ames.

- SERNANDER, R. 1906. Entwurf einer Monographie der europäischen Myrmekochoren. *Sven Vet Akad Handl*, Uppsala *apud* LISCI, M., BIANCHINI, M. & PACINI, E. 1996. Structure and function of elaiosome in some Angiosperm species. *Flora* 191:131-141.
- SINGH, R.P. 1954. Structure and development of seeds in Euphorbiaceae: *Ricinus communis* L. *Phytomorphology* 4:118-123.
- SINGH, R.P. 1969. Structure and development of seeds in *Euphorbia helioscopia*. *Botanical Magazine Tokyo* 82:287-293.
- SINGH, R.P. & CHOPRA, S. 1970. Structure and development of seeds in *Croton bonplandianum*. *Phytomorphology* 20:83-87.
- SOUZA V.C. & LORENZI, H. 2005. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Editora Plantarum, Nova Odessa.
- TOLEDO, A.P. 1963. Anatomia e desenvolvimento ontogenético do fruto e da semente de mandioca. *Bragantia* 22:LXXI-LXXVI.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 1998. Ovules and seeds in Crotonoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 120:165-186.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2002. Ovules and seeds in Euphorbioideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Journal of Plant Research* 115:361-374.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2003. Ovules and seeds in Acalyphoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Journal of Plant Research* 116:355-380.
- VIJAYARAGHAVAN, M.R. & PRABHAKAR, K. 1984. The endosperm. *In Embryology of Angiosperms* (B.M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin, p.319-376.
- VON TEICHMAN, I. VAN WYK, A.E. 1991. Trends in the evolution of dicotyledons seeds based on character associations, with special reference to pachycalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* 105:211-237.
- WEBSTER, G.L. 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:33-144.
- WERKER, E. 1997. Seed anatomy. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie).

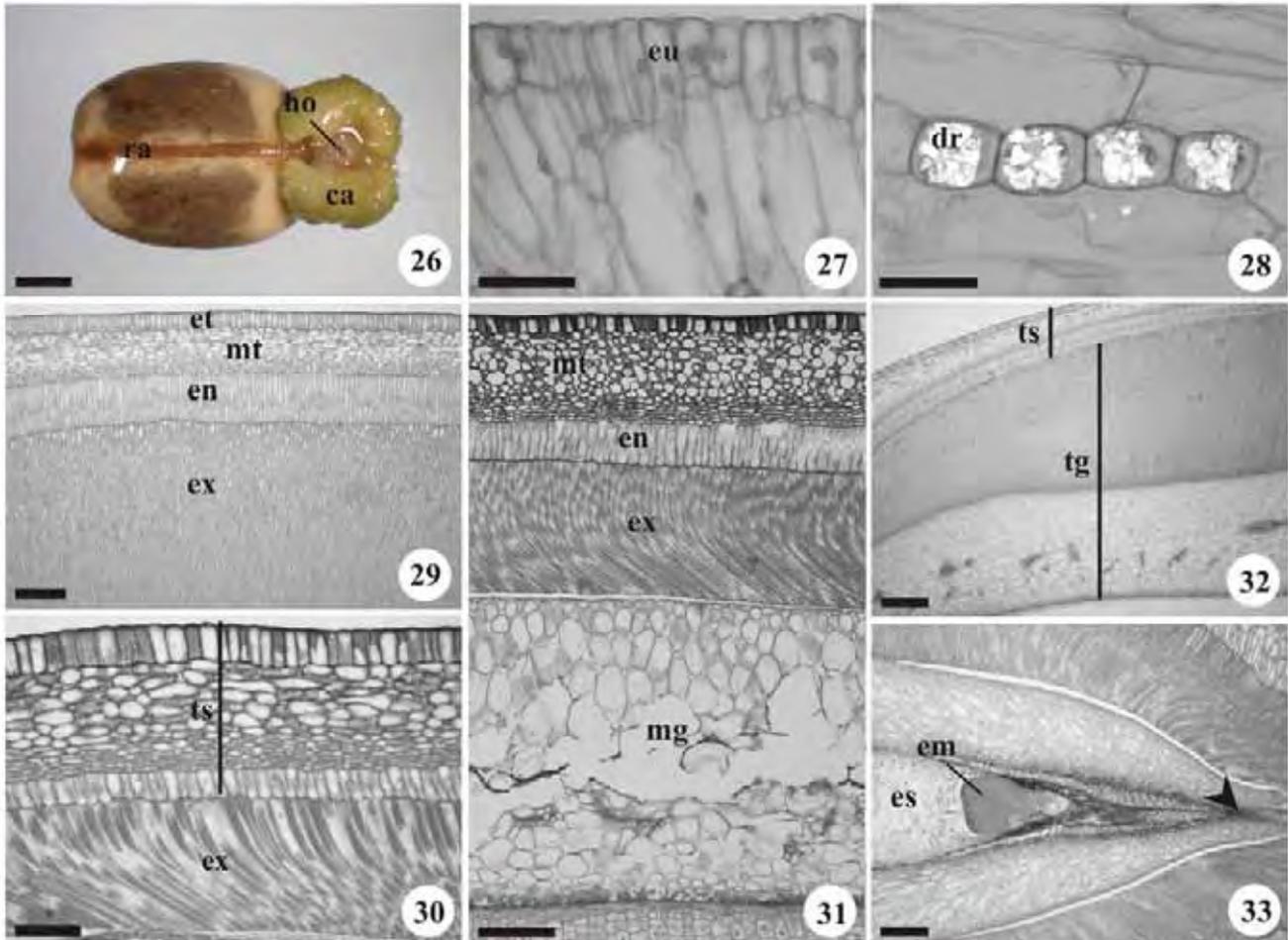
FIGURAS



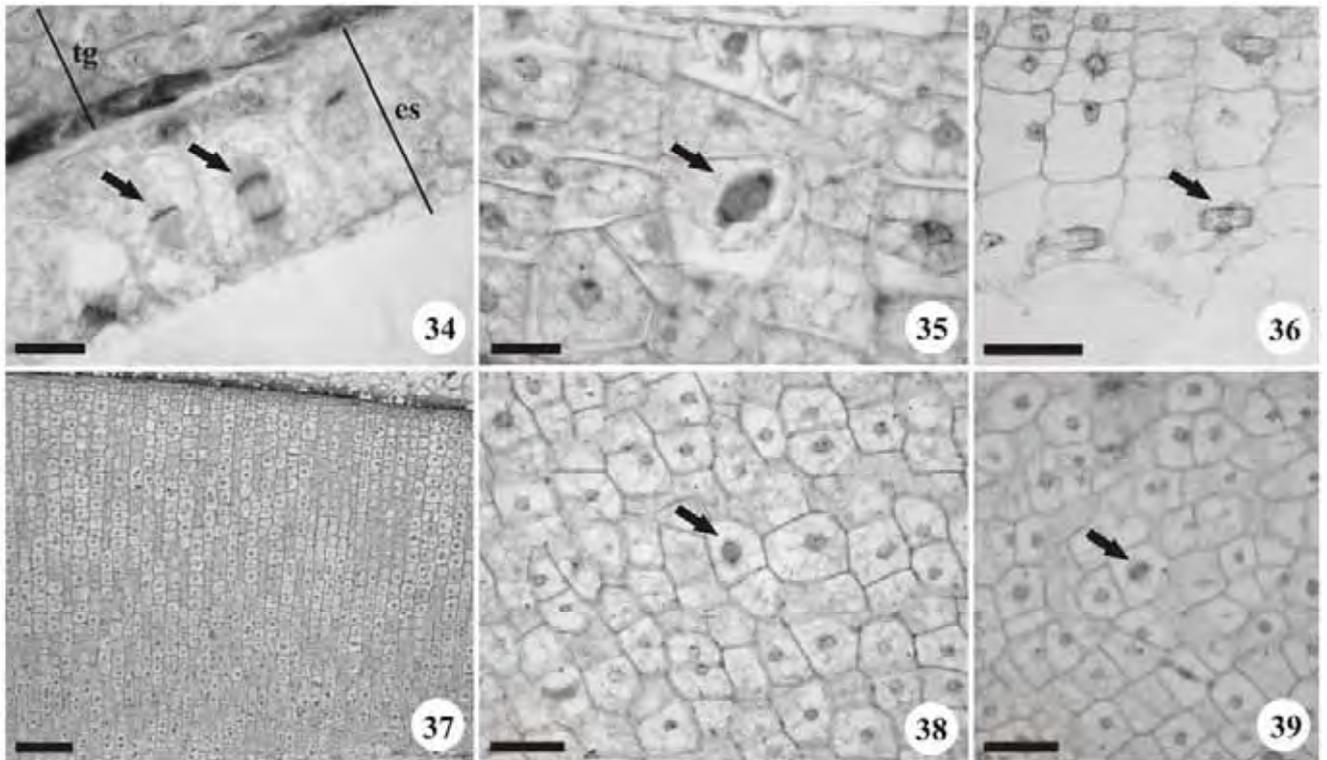
Figuras 1-13. Estrutura do óvulo de *Manihot caerulescens* Pohl (2, 5) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (1, 3-4, 6-13). Secções longitudinais (1-3). Secções transversais (4-13). 1. Vista geral do óvulo pêndulo e anátropo, acompanhado de obturador e inserido em placentação axial. 2. Aspecto geral, mostrando a projeção do nucelo atravessando a micrópila e encontrando o obturador. 3. Vista da micrópila com projeção do nucelo. 4. Detalhe dos tegumentos externo e interno. 5. Detalhe do nucelo. 6-13. Seqüência de secções da região calazal, localizadas como apontado na figura 1. (ea = endóstoma; ec = epiderme do nucelo; eo = exóstoma; ep = endopauicalaza; fr = feixe rafeal; nu = nucelo; ob = obturador; pn = projeção do nucelo; rf = ramificação do feixe vascular; te = tegumento externo; ti = tegumento interno). Barras = 500 µm (1), 150 µm (2-3, 6-13), 100 µm (5), 50 µm (4).



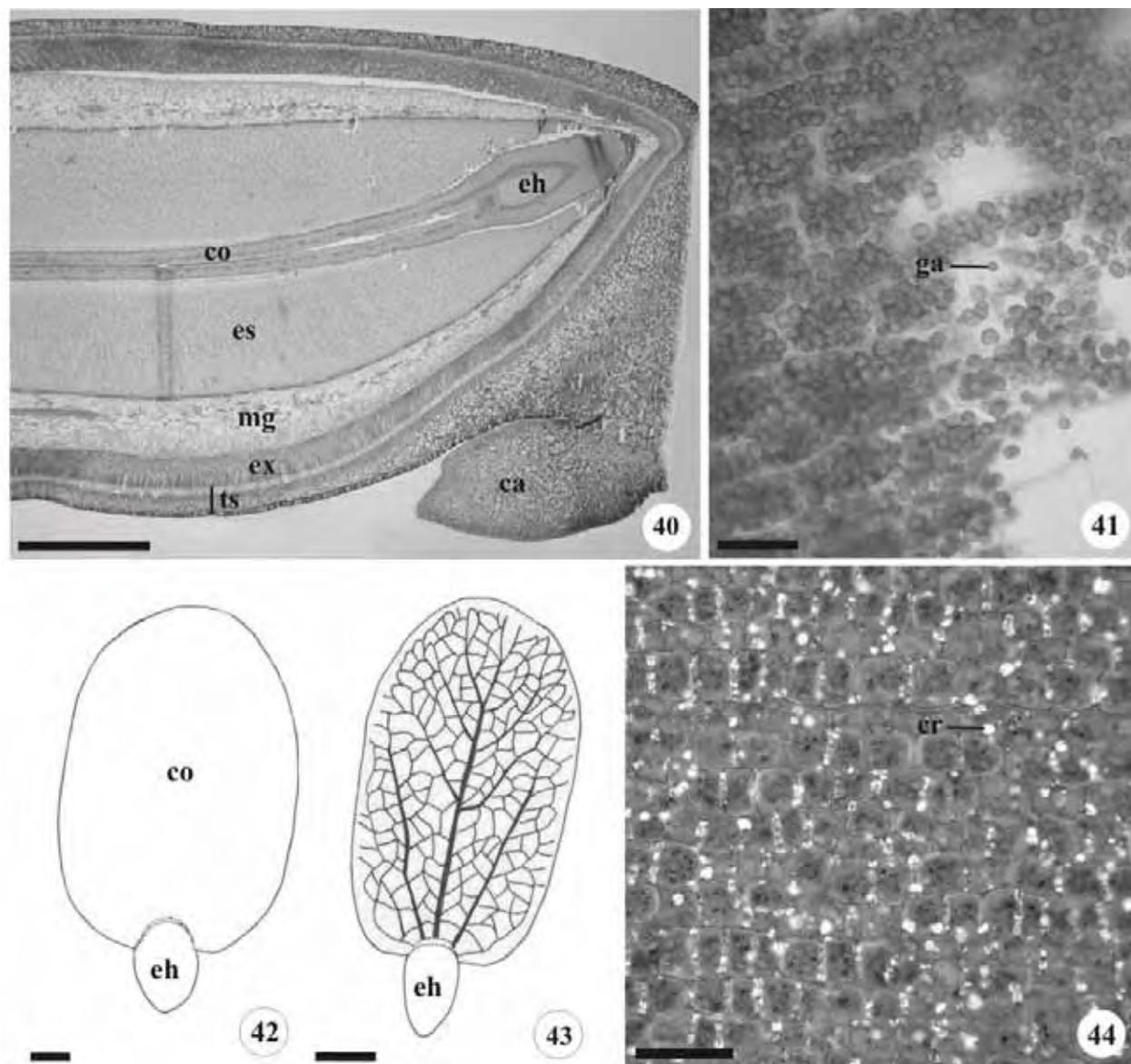
Figuras 14-25. Desenvolvimento da semente de *Manihot caerulescens* Pohl. (14-15, 19, 23) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (16-18, 20-22, 24-25). Secções transversais (14, 16-20, 22). Secções longitudinais (15, 21, 23-25). 14. Detalhe do tegumento interno e região mais interna do tegumento externo de semente no início do desenvolvimento, destacando divisões periclinais (setas). 15. Detalhe da região calazal, com início de alongamento anticlinal do exotégmen. 16. Detalhe da rafe, destacando o feixe rafeal e divisões periclinais nas camadas internas da mesotesta (seta); notar também o alongamento das células exotégmicas. 17. Detalhe da lateral da semente jovem, onde as células do exotégmen tornam-se oblíquas; notar o mesotégmen com células volumosas. 18. Detalhe do endotégmen, também exibindo alongamento anticlinal; observar divisões celulares na porção interna do mesotégmen e o nucelo com epiderme distinta. 19. Semente mais desenvolvida, com o nucelo bastante reabsorvido. 20. Detalhe da testa com estômato na exotesta (ponta de seta). 21. Aspecto da região micropilar da semente jovem, em que a projeção do nucelo foi parcialmente reabsorvida, restando somente resíduos (ponta de seta); notar o envoltório constituído externamente pela testa e, internamente, composto pela endopaquicalaza e pelo tegumento interno, este restrito à porção micropilar. 22-23. Detalhes do endosperma ainda nuclear. 24. Detalhe do mesotégmen e do endosperma no início do processo de celularização. 25. Aspecto da região calazal, evidenciando hipóstase pouco conspícua. (ca = carúncula; ec = epiderme do nucelo; ed = endotégmen; en = endotesta; ep = endopaquicalaza; es = endosperma; et = exotesta; ex = exotégmen; fr = feixe rafeal; hi = hipóstase; mg = mesotégmen; mt = mesotesta; nu = nucelo; rn = resíduo do nucelo; tg = tégmen; ts = testa). Barras = 150 μ m (15, 21, 25), 100 μ m (16-18, 20, 24), 50 μ m (14, 19, 22-23).



Figuras 26-33. Semente de *Manihot caerulescens* Pohl. (27-29, 32) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (26, 30-31, 33) em maturação. Secções longitudinais (29-33). Secções transversais (27-28). 26. Aspecto geral. 27. Detalhe da carúncula, exibindo epiderme distinta. 28. Detalhe da carúncula, mostrando série de células contendo drusas. 29-32. Detalhes dos envoltórios durante o processo de maturação seminal. 33. Detalhe da região micropilar de semente com envoltórios bem diferenciados, evidenciando o embrião cordiforme; notar resquícios da projeção nucelar (ponta de seta). (ca = carúncula; dr = drusa; em = embrião; en = endotesta; es = endosperma; et = exotesta; eu = epiderme da carúncula; ex = exotégmen; ho = hilo; mg = mesotégmen; mt = mesotesta; ra = rafe; tg = tégmen; ts = testa). Barras = 2 mm (26), 500 µm (32), 150 µm (29, 31, 33), 100 µm (28, 30), 50 µm (27).



Figuras 34-39. Desenvolvimento do endosperma núcleo-celular em *Manihot caerulescens* Pohl. (34, 36) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (35, 37-39). Secções longitudinais. 34. Endosperma celularizado com uma a duas camadas de células de paredes delgadas, mostrando a ocorrência de mitoses. 35-36. Endosperma multisseriado ainda com divisões celulares. 37. Aspecto geral do amplo endosperma, exibindo as células dispostas em fileiras radiais. 38-39. Detalhes da figura anterior, com a ocorrência de divisões celulares aleatórias. (es = endosperma; tg = tégmen; seta = divisão celular). Barras = 150 μ m (37), 50 μ m (36, 38-39), 20 μ m (34-35).



Figuras 40-44. Semente madura de *Manihot caerulescens* Pohl. (41-42, 44) e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (40, 43). Secções longitudinais (40, 44). Secção transversal (41). 40. Aspecto geral, evidenciando amplo endosperma e embrião com eixo hipocótilo-radícula e cotilédones diferenciados. 41. Detalhe do endosperma, destacando reserva na forma de grãos de aleurona. 42. Aspecto geral do embrião. 43. Aspecto do embrião diafanizado após remoção de um cotilédone, mostrando o padrão de venação cotiledonar. 44. Detalhe do eixo hipocótilo-radícula, com células densas e a presença de cristais. (ca = carúncula; co = cotilédones; cr = cristal; eh = eixo hipocótilo-radícula; es = endosperma; ex = exotégmen; ga = grão de aleurona; mg = mesotégmen; ts = testa). Barras = 2 mm (40), 1 mm (42-43), 50 μ m (41, 44).

Considerações finais

Tendo em vista os resultados obtidos no presente estudo do desenvolvimento de frutos e sementes, pode-se afirmar que *Manihot caerulescens* e *M. tripartita* possuem várias características estruturais que confirmam os padrões para os representantes de Euphorbiaceae, especialmente para a subfamília Crotonoideae.

Com relação à estrutura inicial, destaca-se a existência de tricomas totores unicelulares em *M. tripartita* e uma forma mais circular, enquanto que, em *M. caerulescens*, o ovário é glabro e a forma é mais angulosa, devido a seis projeções longitudinais que ocorrem sobre as regiões dorsais e entre os septos.

Nos frutos, um destaque especial deve ser feito quanto à diferença de composição do estrato esclerenquimático dos frutos entre as duas espécies. Em *M. caerulescens*, o estrato esclerenquimático é originado pela região mais interna do mesocarpo mediano e pelo mesocarpo interno; em *M. tripartita*, há um terceiro estrato além destes dois, o qual é proveniente da porção mais externa do endocarpo. A partir da composição do estrato esclerenquimático nas duas espécies e da estrutura dos tecidos de separação presentes, foi possível explicar a ocorrência de cápsula indeiscente em *M. caerulescens* e de cápsula septi-loculicida em *M. tripartita*.

Com relação às sementes, as duas espécies apresentam um padrão morfoanatômico bem semelhante, desde o óvulo até a semente madura, típico das Euphorbiaceae. Nos óvulos, destaca-se a presença de projeção do nucelo, que atravessa a micrópila e alcança o obturador. São sementes endopaquicalazais, bitegmentadas, anátropas, albuminosas, apresentando carúncula bem evidente e embrião espatulado característico.

Observou-se que o desenvolvimento do fruto se dá concomitantemente ao da semente, ou seja, ao mesmo tempo em que vai ocorrendo o crescimento e a diferenciação do pericarpo, ocorre crescimento e diferenciação da semente.

Finalmente, a contribuição mais significativa deste trabalho é o relato de um novo tipo de formação de endosperma misto, inédito para a literatura, aqui denominado endosperma núcleo-celular.

Referências bibliográficas

- ALLEM, A.C. 1999. The closest wild relatives of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Euphytica* 107:123-133.
- AÑES, L.M.M., COELHO, M.F.B., ALBUQUERQUE, M.C.F & DOMBROSKI, J.L.D. 2005. Caracterização morfológica dos frutos, das sementes e do desenvolvimento das plântulas de *Jatropha elliptica* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28:563-568.
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141:399-436.
- BARROSO, G.M., PEIXOTO, A.L., COSTA, C.G., ICHASO, C.L.F., GUIMARÃES, E.F. & LIMA, H.C. 1991. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Imprensa Universitária, Viçosa.
- BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. *Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas*. Editora UFV, Viçosa.
- BERG, R.Y. 1975. Fruit, seed, and myrmecochorous dispersal in *Micrantheum* (Euphorbiaceae). *Norwegian Journal of Botany* 22:173-194.
- CIFERRI, R. 1938. Saggio de classificazione delle razze di manioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Relaz. Monographie Agrar.-Colon.* 44:1-59 *apud* ROGERS, D.J. & APPAN, S.G. 1973. *Manihot*, *Manihotoides* (Euphorbiaceae). *Flora Neotropica* 13:1-272.
- CORDEIRO, I. 1992. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Euphorbiaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 13:169-217.
- CORNER, E.J.H. 1976. *The seeds of dicotyledons*. Cambridge, University Press. 2v.
- COUTINHO, L.M. 2002. O bioma do cerrado. *In* Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois (A.D. Klein, ed.). Ed. Unesp, São Paulo.
- CUTTER, E.C. 1986. *Anatomia vegetal (Primeira parte) – Células e tecidos*. 2ªed. Ed. Roca, São Paulo.
- DURIGAN, G., BAITELLO, J.B., FRANCO, G.A.D.C. & SIQUEIRA, M.F. 2004. *Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada*. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.
- EITEN, G. 1972. The cerrado vegetation of Brazil. *Botanical Review* 38:201-341.
- EITEN, G. 1977. Delimitação do conceito de cerrado. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 21:125-134.

- ESAU, K. 1959. Anatomia veretal. Ediciones Omega, Barcelona.
- FREITAS, L., BERNARDELLO, G., GALETTO, L. & PAOLI, A.A.S. 2001. Nectaries and reproductive biology of *Croton sarcopetalus* (Euphorbiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 136:267–277.
- GRANER, E.A. 1935. Contribuição para o estudo citológico da mandioca. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- GRANER, E.A. 1942. Notas sobre florescimento e frutificação da mandioca. *Bragantia* 2:1-12.
- JOLY, A.B. 1970. Conheça a vegetação brasileira. Polígono, EDUSP, São Paulo.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. Plant Systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Massachusetts.
- KAPIL, R.N. & BHATNAGAR, A.K. 1994. The contribution of embryology to the systematics of the Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:145-159.
- KLINK, C.A. 1996. Relação entre o desenvolvimento agrícola e a biodiversidade. *In* Anais VIII Simpósio sobre o Cerrado, 1st International Symposium on Tropical Savanas - Biodiversidade e Produção Sustentável de Alimentos e fibras nos Cerrados (R.C. Pereira, & L.C.B. Nasser, eds.). Embrapa/CPAC, Brasília.
- LAGÔA, A.M.M.A. & PEREIRA, M.F.D.A. 1989. Envolvimento do tegumento no controle da germinação de sementes de *Ricinus communis* L. *Revista de Biologia* 14:213-220.
- LANDES, M. 1946. Seed development in *Acalypha rhomboidea* and some other Euphorbiaceae. *American Journal of Botany* 33:562-568.
- LEDRU, M.P. 2002. Late quaternary history and evolution of the cerrados as revealed by palynological records. *In* The cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a neotropical savanna (P.S. Oliveira & R.J. Marquis, eds.). Columbia University Press, New York.
- LISCI, M., BIANCHINI, M. & PACINI, E. 1996. Structure and function of elaiosome in some Angiosperm species. *Flora* 191:131-141.
- LUCHI, A.E. 2004. Anatomia do lenho de raiz de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) de solos com diferentes níveis de umidade. *Hoehnea* 31:243-250.
- MARTIN, A.C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. *The American Midland Naturalist* 3:513-660.
- MENDONÇA, M.S. 1983. Estudo de plantas laticíferas. I Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot caerulescens* Pohl. *Acta Amazonica* 13:501-517.

- MENDONÇA, R.C., FELFILI, J.M., SILVA JR., M.C., REZENDE, A.V., NOGUEIRA, P.E., WALTER, B.M.T. & FILGUEIRAS, T.S. 1998. Flora vascular do cerrado. *In* Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano & S.P. Almeida, eds). Embrapa/CPAC, Planaltina.
- NASSAR, N.M.A. 2000. Cytogenetics and evolution of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Genetics and Molecular Biology* 23:1003-1014.
- NASSAR, N.M.A. 2001. Cassava, *Manihot esculenta* Crantz and wild relatives: their relationships and evolution. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48:429-436.
- NASSAR, N.M.A. & TEIXEIRA, R.P. 1983. A quebra da dormência da semente das espécies selvagens da mandioca, *Manihot* spp. *Ciência e Cultura* 35:630-632.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T. & RATTER, J.A. 2002. Vegetation physionomies and woody flora of the Cerrado biome. *In* The cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a neotropical savanna (P.S. Oliveira & R.J. Marquis, eds). Columbia University Press, New York.
- PAOLI, A.A.S., FREITAS, L. & BARBOSA, J.M. 1995. Caracterização morfológica dos frutos, sementes e plântulas de *Croton floribundus* Spreng. e de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Sementes* 17:57-68.
- RAO, P.N. & RAO, D.S. 1976. Embryology of cassava. *Proceedings of the Indian National Science Academy* 42:111-116.
- RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do bioma cerrado. *In* Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano & S.P. Almeida, eds.). Embrapa/CPAC, Planaltina.
- ROGERS, D.J. & APPAN, S.G. 1973. *Manihot*, Manihotoides (Euphorbiaceae). *Flora Neotropica* 13:1-272.
- ROTH, I. 1977. Fruits of Angiosperms. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie).
- SERNANDER, R. 1906. Entwurf einer Monographie der europäischen Myrmekochoren. *Sven Vet Akad Handl, Uppsala* *apud* LISCI, M., BIANCHINI, M. & PACINI, E. 1996. Structure and function of elaiosome in some Angiosperm species. *Flora* 191:131-141.
- SILVA, R.M., BANDEL, G., FARALDO, M.I.F. & MARTINS, P.S. 2001. Biologia reprodutiva de etnovarietades de mandioca. *Scientia Agricola* 58:101-107.
- SINGH, R.P. 1954. Structure and development of seeds in Euphorbiaceae: *Ricinus communis* L. *Phytomorphology* 4:118-123.
- SINGH, R.P. 1969. Structure and development of seeds in *Euphorbia helioscopia*. *Botanical Magazine Tokyo* 82:287-293.

- SINGH, R.P. & CHOPRA, S. 1970. Structure and development of seeds in *Croton bonplandianum*. *Phytomorphology* 20:83-87.
- SMITH, L.B., DOWNS, R.J. & KLEIN, R.M. 1988. Euforbiáceas. *In* Flora Ilustrada Catarinense (R. Reitz, ed.). Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, p.3-285.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2005. Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Editora Plantarum, Nova Odessa.
- SPJUT, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 70:1-182.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J. & SILVA, M.F. 1979. Plantas tóxicas da Amazônia: a bovinos e outros herbívoros. INPA, Manaus.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 1995. Embryology and systematics of Euphorbiaceae sens. lat.: a review and perspective. *Journal of Plant Research* 108:97-106.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 1998. Ovules and seeds in Crotonoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 120:165-186.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2002. Ovules and seeds in Euphorbioideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Journal of Plant Research* 115:361-374.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2003. Ovules and seeds in Acalyphoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications. *Journal of Plant Research* 116:355-380.
- TOLEDO, A.P. 1963. Anatomia e desenvolvimento ontogenético do fruto e da semente de mandioca. *Bragantia* 22:LXXI-LXXVI.
- WEBSTER, G.L. 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:33-144.
- WERKER, E. 1997. Seed anatomy. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie).