

# BRAGANTIA

Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo

Vol. 16

Campinas, outubro de 1957

N.º 2

## DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE DO AMENDOIM CULTIVADO, *ARACHIS* *HYPOGAEA* L. (\*)

CÂNDIDA H. T. MENDES CONAGIN

Engenheiro-agrônomo, Seção de Citologia, Instituto Agrônômico

### RESUMO

Sendo esparsos na literatura os dados sobre o desenvolvimento da semente do amendoim cultivado, realizamos um estudo, o mais detalhado possível, das fases desse desenvolvimento.

Não tendo sido possível colher óvulos com idades determinadas, relacionamos o desenvolvimento com tamanhos crescentes, desde óvulos microscópicos até a semente madura.

O aumento de tamanho do óvulo se dá, segundo nossas medições, principalmente, pelo crescimento dos tegumentos.

Nos menores óvulos examinados já não encontramos nucelo.

Os exames revelaram que o endosperma do amendoim é do tipo nuclear e que persiste até o estado final de semente, só desaparecendo quando esta se encontra fisiologicamente madura.

O embrião se diferencia logo de início; tem crescimento lento no princípio e muito rápido no fim, preenchendo toda a cavidade embrionária e constituindo a massa da semente.

Os tegumentos, que de início ocupam a maior parte do volume do óvulo, constituem finalmente a película fina e colorida da semente.

O endosperma, o embrião e os tegumentos foram estudados anatômicamente.

### 1 — INTRODUÇÃO

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.) é uma leguminosa papilionácea, de sementes ex-albuminadas, isto é, sem endosperma; as sementes são constituídas pelos dois cotilédones, que encerram entre eles as outras partes do embrião, e são envolvidas por uma fina película colorida.

O objetivo desta pesquisa foi estudar as transformações do endosperma desde a sua formação, a idade da semente em que êle desaparece, o crescimento do embrião e a constituição da película da semente madura.

(\*) A autora agradece aos Engenheiros-agrônomo Antônio José Teixeira Mendes e Dalvo Mattos Dedecca, a colaboração recebida durante a execução do trabalho.  
Recebido para publicação em 23 de junho de 1956.

## 2 — REVISÃO DA LITERATURA

Diversos pesquisadores têm se ocupado em estudar a botânica, a anatomia, a micro- e a macroporogênese, a singamia e a embriogênese de *Arachis hypogaea* L. destacando-se, entre todos, os trabalhos de Reed (5), Badami (1, 2), Banerji (3) e Smith (6).

Embora sujeitos a crítica e discussão, êsses autores fornecem muitos dados úteis ao nosso trabalho.

O estudo mais completo é o de Smith, no qual êle descreve com bastante detalhes a formação dos tegumentos, do saco embrionário e os primeiros estados de desenvolvimento do embrião em ovários de idades conhecidas, dando, portanto, tôda a seqüência dos estados até a idade de 10 dias, isto é, 10 dias após a abertura das flôres.

Segundo Smith, o desenvolvimento do saco embrionário em *Arachis hypogaea* L. é normal; no momento da polinização as antípodas e as sinérgidas já degeneraram, ficando apenas a oosfera e os núcleos polares; a cavidade central é cheia de grãos de amido. A singamia ocorre entre 12 e 18 horas após a polinização; as divisões do endosperma são mais rápidas que as do embrião, mas ambos se desenvolvem vagarosamente nas primeiras duas semanas, tempo êste gasto pelo "peg" no seu crescimento geotrópico. Com a idade de 4-5 dias o embrião apresenta cinco células e o endosperma 8-16 núcleos.

## 3 — MATERIAL E MÉTODO

Para os estudos a que nos propusemos neste trabalho e que já foram mencionados de início, colhemos ovários, frutos e sementes de plantas das variedades Tatu (V.53), NC-4 (V.263) e B-33 (V.265); a primeira delas é de tipo vegetativo ainda não determinado; as duas últimas são do tipo Virgínia ereto.

As observações foram iniciadas em ovários de 10 dias, visto já ser conhecido com bastante detalhe o desenvolvimento de óvulos até essa idade (6). As flôres foram marcadas no dia da abertura; os ovários que se formaram foram colhidos 10, 15 e 20 dias após a abertura das flôres que os originaram. Entretanto, não foi possível continuar usando êste método, porque depois de 20 dias, com muita freqüência, os "pegs" perdiam a etiquêta de identificação ao penetrarem no solo. Resolvemos, então, obter os estados mais adiantados colhendo ovários de tamanhos crescentes, admitindo que uma seqüência de tamanhos de ovários corresponderia a uma seqüência de idades e fornecer-nos-ia também, uma seqüência de tamanhos crescentes de óvulos, até o estado final de semente.

Os óvulos e as sementes foram fixados em Craff, tratados pelo processo de álcool butílico e incluídos em parafina, grupando os tamanhos semelhantes no mesmo bloco. Foram cortados a 12 e 14 micros e coloridos pelo processo da hematoxilina férrica de Heidenhain.

Técnica de medições — As medidas tomadas para êste trabalho foram as seguintes: comprimento e largura dos óvulos e do saco embrionário; comprimento do embrião; espessura dos integumentos e da película da semente madura.

Comprimento do óvulo é o maior comprimento do seu eixo vertical (Fig. 1-Aa). Largura do óvulo é a maior medida do seu eixo horizontal (Fig. 1-Ab). Comprimento do saco embrionário é a maior medida do seu eixo vertical (Fig. 1-Ac). Largura do saco embrionário é a maior medida do seu eixo horizontal (Fig. 1-Ad).

O comprimento do óvulo foi sempre tomado colocando-se uma lâmina micrométrica sôbre o corte escolhido e fazendo-se a leitura diretamente à lupa. A largura dos óvulos, o comprimento e a largura do saco embrionário foram tomados com uma ocular micrométrica, ao microscópio, fazendo-se depois a conversão das unidades utilizadas. Quando, entretanto, os óvulos foram cortados transversalmente, essas medidas não puderam ser tomadas com as referidas escalas micrométricas e foram calculadas multiplicando-se o número de cortes pela sua espessura.

Quanto à espessura dos tegumentos, consideramo-la apenas no sentido transversal, tomada na região mais larga do óvulo; nos óvulos menores essa medida foi calculada fazendo-se a diferença entre a largura do óvulo (Fig. 1-Ab) e a do saco embrionário (Fig. 1-Ad) e dividindo-a por dois:  $\frac{b - d}{2}$ ; nos óvulos maiores foi feita uma leitura direta da espessura dos dois lados (Fig. 1-Al e Al'), somada e dividida por dois:  $\frac{l + l'}{2}$ .

O embrião também foi medido à lupa ou com a ocular micrométrica ao microscópio, conforme seu tamanho o permitiu; seu comprimento é a distância que vai da base do suspensor à extremidade dos cotilédones (Fig. 1-Ae).

As sementes maduras foram cortadas em seções antes de serem incluídas, seções estas constituídas às vêzes pela região apical, outras pela região basal e ainda outras, pelo centro das sementes; a única medição que interessou foi a espessura dos tegumentos, a qual foi tomada diretamente à lupa.

Contagem do número de núcleos do endosperma — Esta foi feita diretamente, contando-se o número de núcleos em cada corte de cada óvulo, lâmina por lâmina; somadas essas parcelas, obtivemos o número total.

Não podemos considerá-la uma contagem exata, pois em alguns óvulos houve falta de cortes, outras vêzes os cortes estavam mal colocados e outras ainda, como aconteceu nos óvulos maiores, cada corte incluía muitos núcleos em vários planos. Entretanto, pode ser considerada uma contagem bastante aproximada.

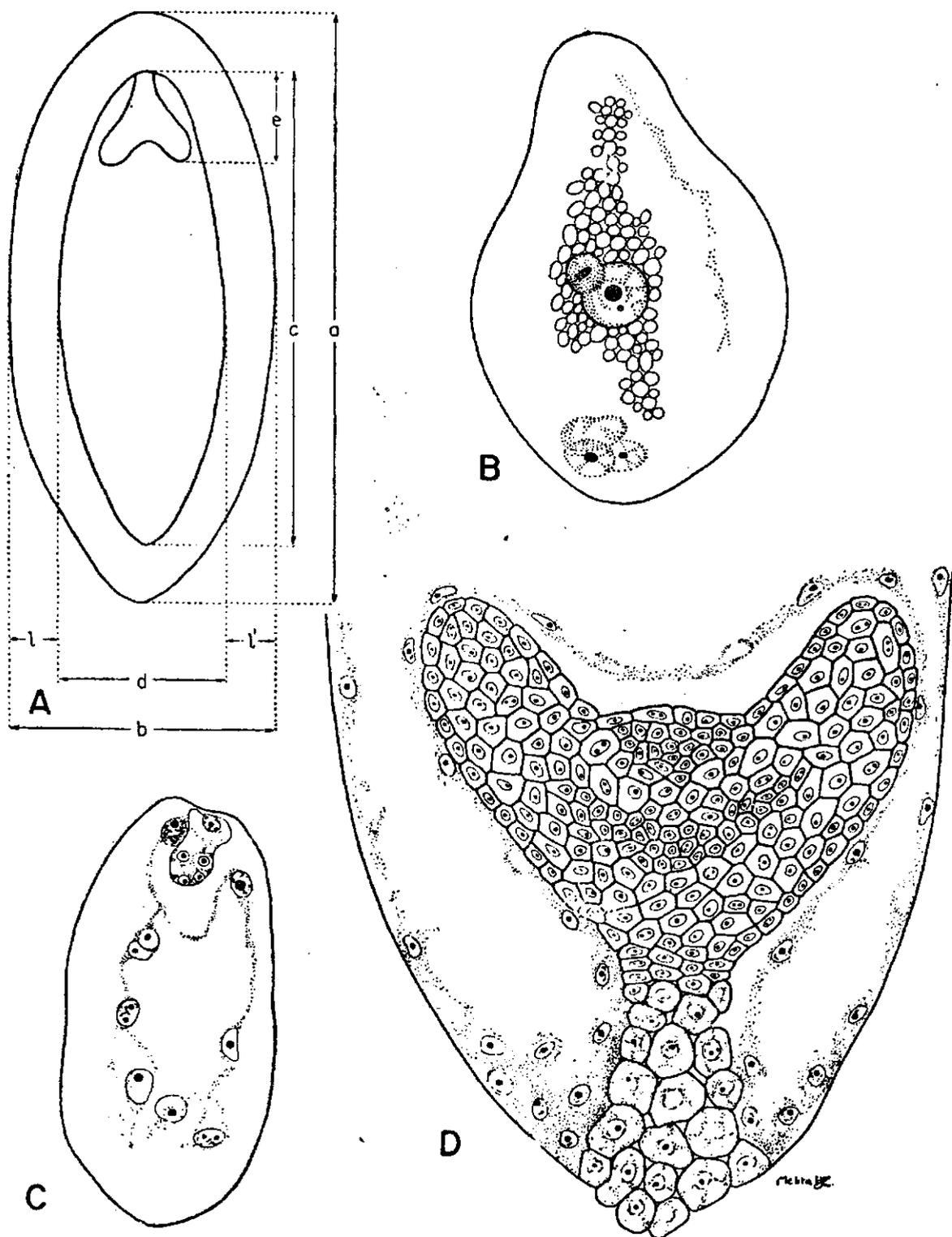


FIG. 1. — *Arachis hypogaea* L. A — Esquema de um óvulo indicando as medições feitas (x25). B — Saco embrionário mostrando a formação do núcleo do endosperma (x350). C — Saco embrionário com núcleos de endosperma e um embrião (x250). D — Núcleos livres de endosperma à periferia do embrião e do saco embrionário (x150).

Contagem de células nas camadas dos tegumentos — Foi feita tanto em cortes longitudinais como transversais dos óvulos e das sementes, verificando-se ser indiferente a sua escolha. Os números considerados foram obtidos em contagens sempre feitas nos cortes que apresentavam as maiores medidas longitudinais e transversais, tendo-se também obtido uma idéia da variabilidade em qualquer região do óvulo, pois muitos cortes de cada lâmina foram examinados sob êste ponto de vista.

#### 4 — OBSERVAÇÕES SÓBRE O ENDOSPERMA

O processo de fertilização em *Arachis hypogaea* L. é normal; um dos gâmetas masculinos se funde à oosfera para dar o embrião e o outro se funde ao núcleo diplóide do saco embrionário para dar o endosperma.

Diversas razões de ordem técnica e também a curta duração do processo tornam difícil o exame do momento exato das fusões. Entretanto, em nosso material foi possível examinar o início da formação do endosperma (Fig. 1-B).

Foram examinados óvulos com 10, 15 e 20 dias de idade (os óvulos com 20 dias não atingem 0,4 mm de comprimento), tendo sido encontrado um máximo de 18 núcleos em óvulos de 10 dias e 32 núcleos em óvulos de 20 dias, já sendo possível notar a tendência natural de se localizarem à periferia da cavidade embrionária e do embrião.

Os núcleos de endosperma geralmente apresentam mais de dois nucléolos; dividem-se ativamente, resultando um aumento muito rápido em número; acham-se imersos no citoplasma da célula central, dispondo-se à periferia da cavidade embrionária, deixando um grande vacúolo no centro, e à periferia do embrião (Fig. 1-C e D).

O endosperma do amendoim é do tipo nuclear, as divisões livres se realizando até atingir aproximadamente 11.000 núcleos; neste estado os óvulos têm mais ou menos 3,5 mm de comprimento. Dêste tamanho para a frente, começamos a encontrar regiões onde o endosperma se apresenta celular. Infelizmente não tivemos elementos para relacionar o tamanho dos óvulos com as idades respectivas. Êste ponto será objeto de um trabalho futuro.

A distribuição das zonas celular e nuclear do endosperma é a seguinte: o endosperma que forra as paredes da cavidade embrionária na região do embrião é celular; dêsse modo, a face externa dos cotilédones também é recoberta por endosperma celular (Fig. 2-Ac, Bc, Cc); os núcleos de endosperma que se acham mais internamente e os que recobrem a superfície interna dos cotilédones são livres (Fig. 2-An, Bn, Cn); a região da cavidade embrionária que o embrião ainda não atingiu na marcha do seu desenvolvimento, continua sendo forrada por um endosperma nuclear (Fig. 2-Al, Bl, Dl).

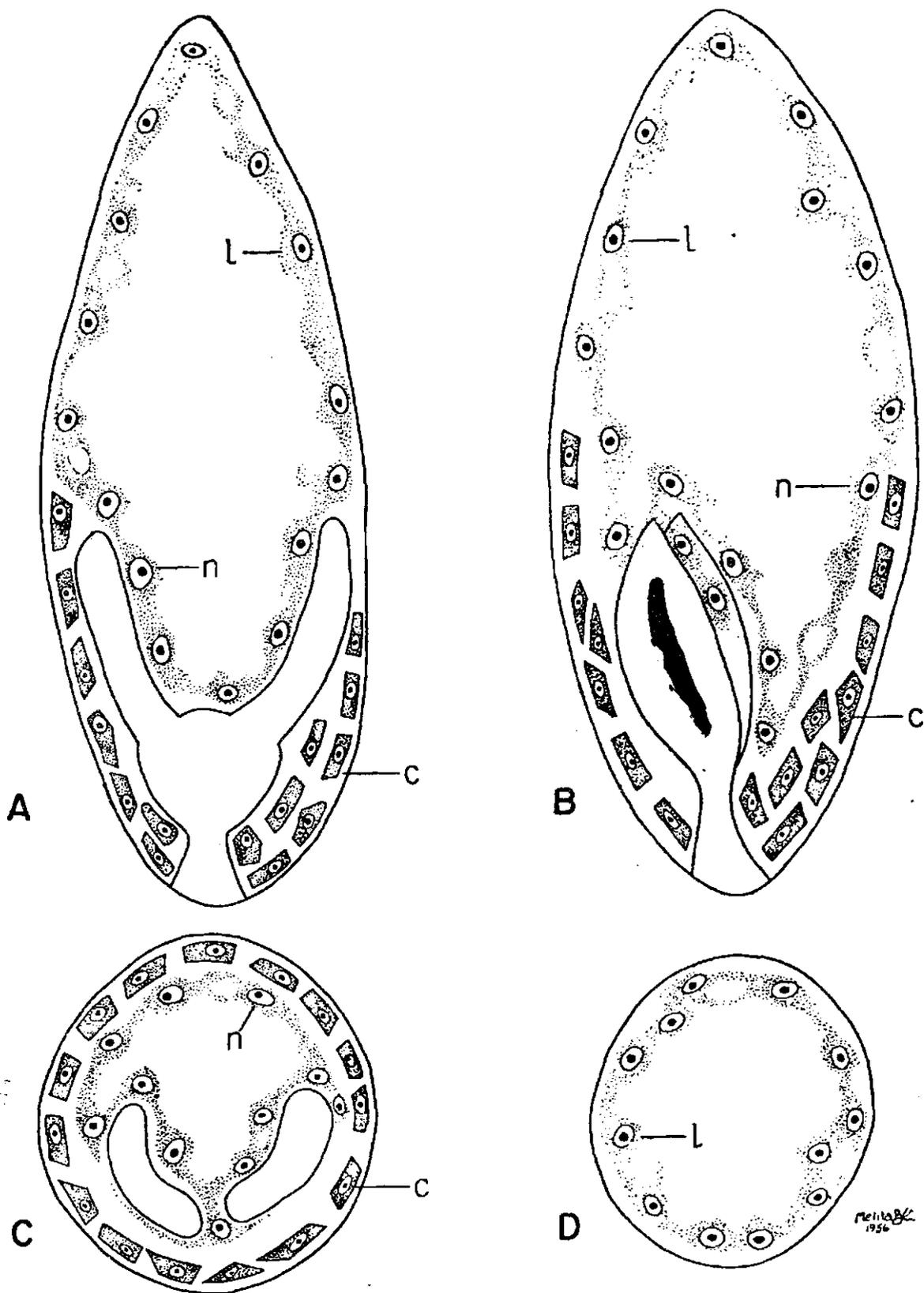


FIG. 2. — *Arachis hypogaea* L. Cortes da cavidade embrionária mostrando a distribuição dos endospermas celular (c) e nuclear (n). A e B — Cortes longitudinais segundo dois planos perpendiculares. C — Corte transversal na região apical da cavidade embrionária. D — Corte transversal na região basal da cavidade embrionária (cavidade embrionária e embrião = x30; células e núcleos = x240).

Nos óvulos em que o embrião toma mais de metade da cavidade embrionária, o endosperma da região basal se apresenta celular também junto à parede interna da cavidade, os núcleos do centro continuando livres.

O endosperma persiste até o óvulo completar o seu crescimento, desaparecendo totalmente nas sementes que se acham fisiologicamente maduras.

No decorrer deste estudo foram feitas medições de núcleos de endosperma ao longo da cavidade embrionária; tivemos o cuidado de medir núcleos no mesmo estado, com um só nucléolo; quando se tratava de endosperma celular, medimos só os núcleos das células junto à parede da cavidade embrionária. As medições feitas indicam que não há diferença no tamanho dos núcleos de mesmo tipo, isto é, os núcleos livres são todos, praticamente, de igual tamanho, o mesmo acontecendo com os núcleos das células endospérmicas, quer êles estejam na região da micrópila ou na região calazal. Existe, entretanto, uma diferença bem nítida entre os núcleos de endosperma nuclear e endosperma celular, sendo menores os celulares.

## 5 — OBSERVAÇÕES SÔBRE O EMBRIÃO

Dentro da cavidade embrionária o embrião também vem se desenvolvendo; apresenta, no início, o suspensor e a futura região cotiledonar; muito em breve, entretanto, os cotilédones e a plúmula se diferenciam. Daí em diante, é acentuado o desenvolvimento do embrião: em um óvulo cuja cavidade embrionária mediu 2,05 mm, êle atingiu 0,44 mm; em outro, para cavidade de 4,40 mm, tinha 2,00 mm e, num terceiro, cuja cavidade era de 4,90 mm o embrião mediu 3,90 mm. A relação entre os comprimentos dessas cavidades embrionárias e do embrião nelas contido vai diminuindo de 5,0 para 2,2, para 1,3, tendendo a atingir 1:1, pois na semente madura o embrião ocupa tôda a cavidade embrionária (Quadro 1).

QUADRO 1.—Relação entre os comprimentos da cavidade embrionária e do embrião, em *Arachis hypogaea* L.

Cavidade embrionária	Embrião	$\frac{C. \text{ embrionária}}{\text{Embrião}}$
<i>mm</i>	<i>mm</i>	
2,05	0,44	5:1
4,40	2,00	2,2:1
4,90	3,90	1,3:1

O desenvolvimento do embrião e do endosperma em amendoim se enquadra perfeitamente na correlação observada por Rao (4): em plantas cujo embrião se diferencia desde cedo, o endosperma é nuclear, a divisão em células se realizando bem tarde.

O desenvolvimento dos cotilédones continua até que êles, finalmente, ocupem a cavidade embrionária, constituindo a massa da semente.

Desde cedo se observa uma nítida epiderme no embrião. O suspensor é formado por células grandes, arredondadas, muito diferentes em tamanho e em forma, das células dos cotilédones e da plúmula, que são pequenas e poliédricas (Fig. 1-D).

O embrião está colocado na parte apical do óvulo (Fig. 3-A), a parte basal do suspensor justapondo-se à epiderme interna dos tegumentos (Fig. 3-As, Bs) e introduzindo-se em parte na micropila. Na região do óvulo onde se assenta a base do suspensor, as células epidérmicas do tegumento interno modificam-se ligeiramente (Fig. 3-Ac, Bc), perdendo a forma regular que apresentam em outras regiões.

Durante todo o seu desenvolvimento o embrião é envolvido pelo endosperma, como já foi atrás descrito.

As células que constituem o parênquima dos cotilédones são poliédricas e providas de um núcleo normal. Quando a semente completa o seu desenvolvimento elas apresentam algumas gotas de óleo e alguns grãos de amido (Fig. 3-E); quando bem maduras, as células se enriquecem de óleo (Fig. 3-F) dando ao cotilédone neste estado um aspecto bem diferente do estado anterior.

A quantidade de óleo que se observa nas células das sementes de amendoim aumenta, então, consideravelmente, com o seu amadurecimento.

Característica interessante do óleo na célula é a de não se dissolver pelos solventes comuns. Com relação a êste fato podemos relatar o seguinte: tomamos uma amostra de óleo de amendoim extraído na Seção de Oleaginosas e observamos que êle se dissolve quando tratado pelo xilol, clorofórmio e pelo éter; entretanto, em cortes de cotilédones de sementes maduras, esmagados em uma lâmina e tratados pelos mesmos solventes; o óleo não sofre a menor alteração.

Surgiu então a dúvida sôbre a natureza das gotas encontradas nos cotilédones. Seriam mesmo óleo?

Para esclarecimento fizemos os seguintes testes.

1) Teste para óleo — os cortes de cotilédones foram postos em um pouco do Corante de Gueguein (Sudão III — 0,1g e ácido láctico — 100cc). Tôdas as gotas (exceto algumas que deviam ser amido) se coloriram de vermelho.

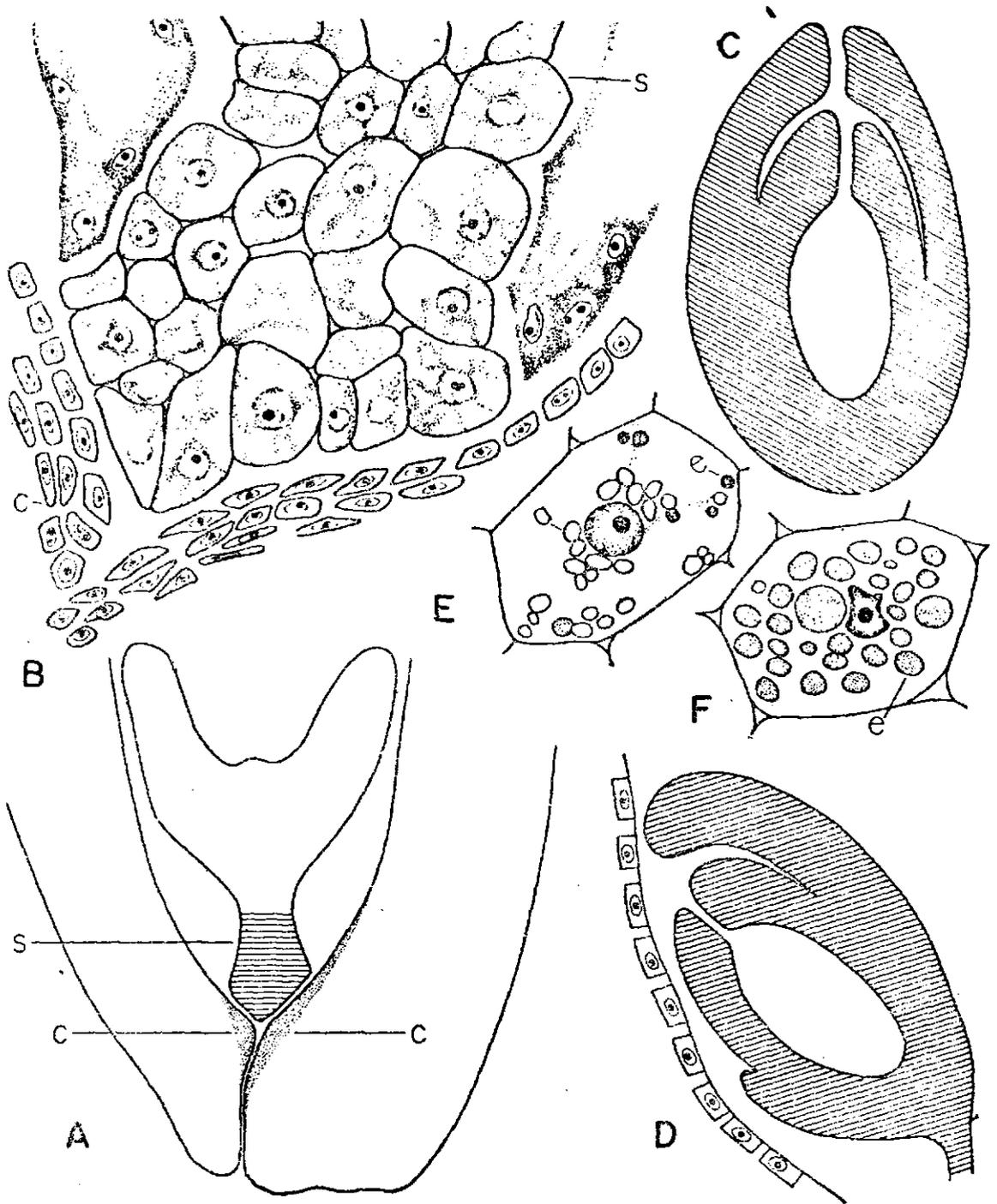


FIG. 3 — *Arachis hypogaea* L. A — Região apical da cavidade embrionária mostrando a justaposição do suspensor (*s*) do embrião à região da micrópila, onde as células (*c*) do tegumento se apresentam modificadas (x50). B — Detalhe da figura anterior: *s* = suspensor; *c* = células do tegumento na região micropilar (x250). C — Corte longitudinal de um óvulo mostrando a presença dos dois tegumentos na formação da micrópila (x150). D — Óvulo em posição forçada, comprimido contra a parede do ovário (x150). E — Célula cotiledonar de uma semente madura, recém-colhida; notam-se alguns grãos de amido (*a*) e raras gotas de óleo (*e*). F — Célula cotiledonar de uma semente madura, alguns dias após a colheita; cheia de gotas de óleo (*e*).

2) Teste para o amido — os cortes foram postos numa solução de iodo iodurada e algumas gotas, as que devem ser amido, coloriram-se de roxo escuro; as demais (óleo) não se coloriram.

3) Teste para tanino — os cortes foram postos em algumas gotas de ácido crômico — nada se coloriu.

4) Teste para amido e óleo — colocamos os cortes em um pouco de corante de Gueguein e, logo em seguida, adicionamos umas gotas de solução de iodo. As gotas de óleo se coloriram de vermelho e as de amido de escuro.

Esses testes foram feitos tanto para sementes recém-colhidas, como para outras guardadas há alguns meses. Confirmaram as conclusões que antes tínhamos tirado, ao examinar as lâminas coloridas com a hematoxilina: a semente recém-colhida tem pouco óleo e alguns grãos de amido; ela só amadurece depois de guardada pelo menos alguns dias, o que se confirma pela grande quantidade de óleo que então enche as suas células.

## 6 — OBSERVAÇÕES SÔBRE OS TEGUMENTOS

O óvulo do amendoim possui dois tegumentos bem distintos; ambos tomam parte na formação da micrópila, em cuja região êles são mais espessos (Fig. 3-C). Em material examinado com as idades de 10 e 20 dias, antes da penetração do “peg” no solo e, portanto, antes do seu intumescimento subterrâneo, os óvulos se encontram comprimidos uns contra os outros dentro do ovário e tomam posições forçadas; por essa razão, muitas vêzes a sua região apical se apresenta deformada e apenas um tegumento forma a micrópila (Fig. 3-D); nos casos normais, entretanto, ela é formada pelos dois tegumentos.

O tegumento externo é mais espêsso que o interno e assim permanece durante o desenvolvimento do óvulo.

O tegumento interno é formado por:

a) uma epiderme de células regulares, dispostas em uma ou duas camadas, com núcleos grandes, nos quais se vê nitidamente o nucléolo e os cromossomos; a cavidade celular é cheia de citoplasma e a parede é espêssa (Fig. 4-Aa); a esta epiderme se justapõe, internamente, o endosperma; há uma pequena diferença nas suas células conforme a região do óvulo: na região calazal elas são mais ou menos quadradas e na região apical são pequenas e achatadas, bem separadas umas das outras;

b) uma zona de duas ou três, às vêzes cinco, camadas de células grandes, cuja seção apresenta quatro ou cinco faces, com citoplasma bastante vacuolizado e de paredes espêsas; núcleos grandes, com o nucléolo e os cromossomos bem visíveis (Fig. 4-Ab).

O tegumento externo é formado por:

c) uma zona de duas ou três camadas de células com aspecto bem diferente do das camadas vizinhas: as células são menores do que as da zona b, mas são, como elas, irregulares na forma e tamanho; predominam, entretanto, as células de seção pentagonal; citoplasma cheio de inclusões; núcleos do mesmo tamanho e no mesmo estado que os do tegumento interno; ocupam, na célula, um volume relativamente maior, porque as células são menores (Fig. 4-Ac);

d) uma zona, a mais espessa dos tegumentos, formada por oito a nove camadas de células grandes, arredondadas, com pequenos espaços inter-celulares; têm grandes vacúolos; seus núcleos variam muito de tamanho (Fig. 4-Ad);

e) uma epiderme externa, unicelular, de paredes muito finas e núcleos grandes; é bastante diferente da do tegumento interno, principalmente na forma: as células da epiderme interna têm o seu eixo maior no sentido transversal do óvulo e as da externa têm-no paralelo à sua curvatura; não apresenta cutícula (Fig. 4-Ae) e em algumas regiões nota-se mais de uma célula formando a epiderme.

A hematoxilina férrica usada no exame dos óvulos colore o citoplasma de cinzento e os cromossomos, nucléolos e inclusões, de preto. Por essa razão as diversas zonas dos tegumentos apresentam aspectos diferentes: quando as células são pouco vacuolizadas e apresentam outras inclusões, como a zona c do tegumento externo, ela se apresenta mais escura do que as outras; ao contrário, as zonas b (do tegumento interno) e d (do externo), cujas células têm grandes vacúolos, apresentam-se mais claras.

Quando o óvulo atinge o seu desenvolvimento completo e se transforma em semente os tegumentos constituem o que chamamos película. Nesta, a parte denominada tégmen é formada pelo tegumento interno e a parte denominada testa é formada pelo tegumento externo.

A película do amendoim apresenta dois aspectos completamente diferentes conforme considerarmos o seu estado de turgidez: nas sementes recém-colhidas, de frutos maduros, a película ainda é túrgida e clara; é o estado em que os tegumentos apresentam o maior número de células e a maior espessura, isto é, 26-27 camadas de células, atingindo mais ou menos 0,9 mm de espessura (Fig. 4-B). Em sementes conservadas por algum tempo, a película é colorida e perde toda a água que possui, tornando-se fina e quebradiça (Fig. 4-C).

Durante o desenvolvimento dos óvulos em sementes, os tegumentos sofrem as seguintes transformações:

a) o tegumento interno fica reduzido à epiderme, pois a zona b desaparece; as células da epiderme se alongam e se achatam, contendo ainda núcleos bem distintos (Fig. 4-Ba);

b) no tegumento externo, a zona c não varia muito de espessura: de 2-3 camadas de células nos óvulos jovens, chega a cinco ou seis na semente madura (Fig. 4-Bc); aliás, a contagem destas camadas é difícil, porque as células se modificam muito, perdendo

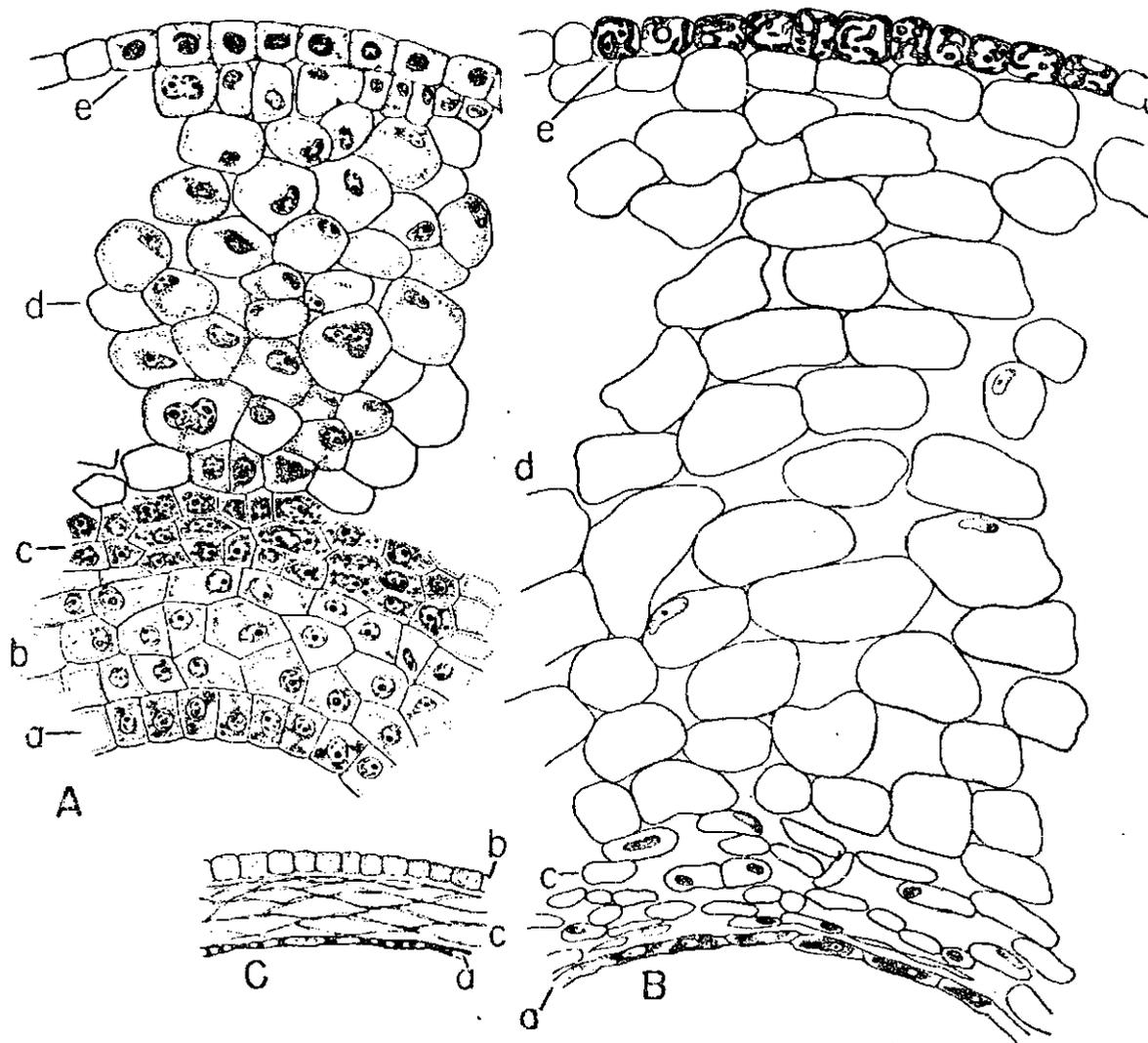


FIG. 4. — *Arachis hypogaea* L. A — Corte transversal dos tegumentos de um óvulo jovem: a, b = tegumento interno; c, d, e = tegumento externo (x267). B — Corte transversal da película de uma semente madura, recém-colhida: o tegumento interno está reduzido à epiderme (a); o tegumento externo possui as mesmas três camadas c, d, e (x150). C — Corte transversal de uma película seca: a = epiderme interna; b = epiderme externa; c = camadas intermediárias desidratadas e alteradas (x150).

as suas características e se assemelhando às células da zona d; é esta a zona responsável pela espessura dos tegumentos; com o desenvolvimento do óvulo esta zona sofre um aumento no tamanho e

no número das células, passando de 8-9 a 18-20; o seu aspecto também se modifica bastante, devido aos grandes vacúolos que ocupam todo o volume das células; poucas delas ainda conservam o núcleo que é pequeno e se acha sempre encostado à parede celular (Fig. 4-Bd); a epiderme externa se torna esclerenquimatosa (Fig. 4-Be), o que pode ser facilmente observado por maceração na solução de Jeffrey.

Depois de sêca, a película se reduz a 0,05 ou 0,10 mm de espessura, sendo formada pelas duas epidermes (a interna e a externa) contendo entre elas, comprimidas, tôdas as células das camadas c e d (Fig. 4-C). Na região dos feixes vasculares, ela se apresenta um pouco mais espêssa, não ultrapassando, entretanto, 0,20 mm.

As medições da espessura dos tegumentos feitas em óvulos de tamanhos diferentes e a contagem do número correspondente de células (Quadro 2) dão uma idéia da transformação dos tegumentos em película: há uma primeira fase em que o crescimento é devido ao aumento do número de células e uma segunda fase em que o maior fator de crescimento é o aumento de tamanho das células.

QUADRO 2.—Número de células das diversas camadas dos tegumentos, relacionado com a sua espessura e com o comprimento dos óvulos, em *Arachis hypogaea* L.

Comprimento dos óvulos	Células nas diversas camadas dos tegumentos						Espessura dos tegumentos
	a	b	c	d	e	Total	
<i>mm</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>mm</i>
1,40 . . . . .	1	2-3	2-3	10-11	1	16-19	0,20
1,55 . . . . .	1	2-3	2-3	10-11	1	16-19	0,18
1,93 . . . . .	1	2-3	2-5	10-12	1	16-22	0,27
1,99 . . . . .	1	5-6	3-4	12-15	1	22-27	0,27
2,13 . . . . .	1	4-5	3-5	16-17	1	25-29	0,33
2,58 . . . . .	1	1-2	4-5	20-21	1	27-30	0,25
2,75 . . . . .	1	1-2	3-4	14-15	1	20-23	0,41
3,27 . . . . .	1	3-4	4-6	15-16	1	24-32	0,21
3,50 . . . . .	1	1-2	4-5	14-15	1	21-24	0,40
4,30 . . . . .	1	1-2	3-5	17-18	1	23-29	0,43
4,48 . . . . .	1	1-2	4-6	15-16	1	22-26	0,30
4,50 . . . . .	1	2	5-6	15-16	1	24-26	0,40
5,40 . . . . .	1	2	5-6	15-16	1	24-26	0,43
5,80 . . . . .	1	1	5-6	15-16	1	23-25	0,65
6,00 . . . . .	1	1	5-6	15-16	1	23-25	0,60
6,50 . . . . .	1	1	5-6	15-16	1	23-25	0,50
7,00 . . . . .	1	1	5-6	15-16	1	23-25	
s. madura . . . . .	1	0	5-6	19-20	1	26-28	0,90
s. madura . . . . .	1	0	5-6	18-19	1	25-27	0,70
s. madura . . . . .	1	0		24-25	1	26-27	0,90
s. madura . . . . .	1	0		24-25	1	26-27	0,70
s. madura (*) . . . . .	1	0	0		1	2	0,10
s. madura (*) . . . . .	1	0	0		1	2	0,05

(\*) Nestas sementes maduras a película já estava sêca.

## 7 — A SEMENTE

A semente do amendoim é, finalmente, constituída por dois cotilédones volumosos, justapostos, envolvidos por uma película colorida e encerrando, na extremidade basal, o conjunto da plúmula e primórdios da radícula. Examinada com uma lente comum, a plúmula apresenta 6 a 8 folhinhas perfeitas, que irão se expandir por ocasião da germinação.

No início, tendo a semente sido um óvulo microscópico, devemos mostrar a relação das partes que constituem uma e outro; os tegumentos do óvulo se transformam na película da semente; a cavidade embrionária, antes cheia de endosperma, foi aumentando de volume, sendo, ao mesmo tempo, ocupada pelos cotilédones do embrião, que finalmente constituem a massa da semente. Entre os cotilédones e a película não existe endosperma e êles se justapõem sem deixar espaço vazio.

De posse das medidas lineares de comprimento e largura dos óvulos, das cavidades embrionárias e da semente, e da espessura dos tegumentos, pudemos calcular os seus respectivos volumes em diversas idades, admitindo, para tanto, que o óvulo e a semente se aproximam da forma de um elipsóide de revolução.

Os elementos que nos permitiram tal cálculo estão reunidos no Quadro 3.

QUADRO 3.—Medidas lineares de cavidades embrionárias e tegumentos de óvulos, em diferentes estados de desenvolvimento em *Arachis hypogaea* L.

ÓVULO	CAVIDADE EMBRIONÁRIA + TEGUMENTOS		CAVIDADE EMBRIONÁRIA	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
	mm	mm	mm	mm
1 . . . . .	1,55	0,67	1,14	0,31
2 . . . . .	1,40	0,72	0,92	0,32
3 . . . . .	2,28	1,55	1,55	0,57
4 . . . . .	2,75	1,15	2,05	0,55
5 . . . . .	2,58	1,24	1,70	0,59
6 . . . . .	3,50	1,30	2,60	0,88
7 . . . . .	4,50	1,70	3,75	1,10
8 . . . . .	4,30	1,80	3,40	1,01
9 . . . . .	5,80	1,90	4,55	1,05
10 . . . . .	5,40	2,00	4,40	1,20
11 . . . . .	± 6,50	2,95	5,10	1,75
Semente	20,70	9,20	20,00	8,27

Com os elementos do Quadro 3 pudemos calcular:

1) o volume do óvulo, que é a soma dos volumes da cavidade embrionária e dos tegumentos;

2) o volume da cavidade embrionária, pela fórmula  $\frac{4}{3}\pi abc$ , na qual  $a$  é o comprimento,  $b$  e  $c$  são largura (podemos considerar os dois eixos horizontais do óvulo do amendoim praticamente iguais);

3) o volume dos tegumentos, diferença entre o volume do óvulo e o da cavidade embrionária.

Os volumes encontrados foram os que se encontram no Quadro 4.

QUADRO 4.—Volume em  $mm^3$ , e respectivas porcentagens das partes da semente em crescimento, em *Arachis hypogaea* L. (\*)

ÓVULO	CAVID. EMBR. + TEG.		CAVID. EMBRIONÁRIA		TEGUMENTOS	
	<i>mm</i> <sup>3</sup>	%	<i>mm</i> <sup>3</sup>	%	<i>mm</i> <sup>3</sup>	%
1 . . . . .	0,365661 <b>1</b>	100	0,057362 <b>1,8</b>	16	0,308289 <b>1</b>	84
2 . . . . .	0,380008 <b>1</b>	100	0,032169 <b>1</b>	8	0,347339 <b>1</b>	92
3 . . . . .	1,193808 <b>3</b>	100	0,287086 <b>9</b>	24	0,906722 <b>3</b>	76
4 . . . . .	1,788489 <b>5</b>	100	0,311470 <b>9,7</b>	17	1,477019 <b>5</b>	83
5 . . . . .	2,077125 <b>6</b>	100	0,302769 <b>9,4</b>	14	1,777356 <b>6</b>	86
6 . . . . .	3,097094 <b>8</b>	100	1,054227 <b>33</b>	34	2,042867 <b>7</b>	66
7 . . . . .	6,809418 <b>18</b>	100	2,369499 <b>73</b>	35	4,439919 <b>14</b>	65
8 . . . . .	7,294795 <b>20</b>	100	1,780240 <b>55</b>	24	5,514555 <b>18</b>	76
9 . . . . .	10,963136 <b>29</b>	100	2,571118 <b>80</b>	24	8,392018 <b>27</b>	76
10 . . . . .	11,309760 <b>30</b>	100	3,317529 <b>103</b>	29	7,992231 <b>25</b>	71
11 . . . . .	29,417628 <b>80</b>	100	7,983861 <b>248</b>	27	21,433767 <b>69</b>	73
Semente . . . .	911,839513 <b>2493</b>	100	716,210448 <b>12482</b>	78	195,629065 <b>631</b>	22

(\*) Os números em negrito indicam os aumentos em volume.

O crescimento dos tegumentos causa o do óvulo e o da cavidade embrionária e se processa de tal forma que o aumento da cavidade é sempre numa razão maior do que o crescimento do óvulo (ver Quadro 4): quando o óvulo é três vezes maior que o tamanho inicial, a cavidade embrionária é nove vezes maior; quando o óvulo cresceu 20 vezes, a cavidade aumentou 55 vezes, e assim até o fim. A cavidade embrionária vai, portanto, ocupando, no óvulo, um lugar relativamente maior, passando de 8 a 78%, de acordo com os nossos

dados (Quadro 4); vai sendo preenchida pelo embrião, cujo desenvolvimento também é muito rápido, como está demonstrado no Quadro 1.

É interessante também saber que no nosso material, partindo de um óvulo cujas medidas estão apresentadas no Quadro 3, os aumentos em volume, até atingir a semente madura, são os seguintes:

no volume do óvulo (tegumento e cavid. embr.)	2493x
no volume da cavidade embrionária . . . . .	12482x
no volume dos tegumentos . . . . .	631x

## 8 — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Um estudo detalhado do desenvolvimento da semente do amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.), pelo que pudemos pesquisar na literatura, não tinha sido feito até agora. Encontramos, entretanto, alguns trabalhos que, embora incompletos, nos forneceram informações valiosas.

Reed (5) em 1938, descreveu a estrutura do saco embrionário, a formação e o desenvolvimento do embrião, documentando-o, entretanto, com maus desenhos. Não se refere aos tegumentos e sim à "parede do óvulo", na qual encontra três tipos de células: a) as células que rodeiam os feixes vasculares); b) as que constituem o tecido de reserva; c) as que constituem o tecido condutor das reservas e que se localizam próximo ao saco embrionário. Como vemos, êle não nos esclarece quanto ao número dos tegumentos do óvulo nem conduz suas observações relacionando-os com a película da semente. Além disso, êle considera o nucelo ainda presente em sacos embrionários cujos embriões já estão bem desenvolvidos e mesmos diferencados, o que está em desacôrdo com as nossas observações. Apesar de estudar o óvulo desde a fertilização até a semente madura, o trabalho de Reed não orienta quanto à marcha dessa evolução, pois êle não relaciona os diferentes estados com a idade ou o tamanho dos óvulos.

Badami (1, 2) descreve em linhas gerais a formação da semente. Entretanto êle deixa o leitor confuso na interpretação de certas afirmações.

Por exemplo, com relação à existência ou não do nucelo, êle escreve o seguinte quando trata do desenvolvimento do embrião (p.67): "Till the carpel has swollen out and the ovule has begun to develop, the embryo is more or less dormant. Then it begins to develop slowly. The fleshy cotyledons are quite leaf-like in character in the early stages. Then, they swell and become fleshy. Finally, the cotyledons fill up the whole cavity of the nucellus" (2).

Não sabemos se êle quer dizer que "finalmente os cotilédones ocupam tôda a cavidade formada pelo nucelo ou a cavidade antes ocupada pelo nucelo. Queremos crer que êle usa o termo nucelo em vez de saco embrionário, pois um pouco antes êle diz "The walls of the ovule or integuments grow thick and swell up in size. Inside the nucellus is hollow and filled with sap full of starch grains."

Outro ponto também confuso é quando êle diz (p.67) que "There is no endosperm in the fertilized ovule. It is represented by a single layer of cells around the embryo and as the embryo develops, it becomes a mere lining to the integuments" (2). Podemos considerar certa a primeira afirmativa se o autor quis se referir ao óvulo recentemente fertilizado, no qual o núcleo triplóide ainda não sofreu nenhuma divisão; daí para diante os óvulos fertilizados possuem endosperma.

O trabalho de Banerji (3) assim como o de Smith (6) se referem aos primeiros estados de desenvolvimento do óvulo, não continuando o estudo durante a sua evolução a semente.

Nenhum dos autores acima mencionados descreve com detalhes o desenvolvimento do endosperma, nem faz referência à idade do óvulo em que êle desaparece, assim como nenhum descreve a transformação dos tegumentos em película da semente.

Das observações que pudemos fazer em óvulos a partir de 10 dias de idade, até a semente madura, podemos resumir as conclusões dadas a seguir.

O óvulo do amendoim é formado, desde essa idade, por dois tegumentos e uma cavidade embrionária que contém o embrião e o endosperma. O núcleo já não existe mais.

O endosperma é do tipo nuclear, havendo um grande número de núcleos livres antes de começar a separação celular; esta se propaga da periferia para o centro da cavidade embrionária, e da sua região micropilar para a região calazal.

Os núcleos do endosperma se dividem muito ativamente, não apresentam diferença de tamanho qualquer que seja a região considerada; existe, porém, diferença de tamanho entre os núcleos livres e os do endosperma celular, êstes sendo menores do que aquêles.

O endosperma persiste até os últimos estados de desenvolvimento da semente, só desaparecendo na semente que, fisiologicamente, completou o seu amadurecimento.

O embrião se diferencia muito cedo; seu desenvolvimento é vagaroso no início e bastante rápido no fim, preenchendo os seus cotilédones tôda a cavidade embrionária; êle fica, assim, justaposto à epiderme interna do tegumento interno.

VOL. 16

BRAGANTIA

1957

ERRATA

p. 31 — linha 27: onde se lê: núcleo, leia-se nucelo

Durante todo o seu desenvolvimento o embrião é envolvido pelo endosperma, até êste desaparecer na semente completamente madura.

O conteúdo das células cotiledonares se modifica com o estado de maturação das sementes: nas sementes recém-colhidas, os cotilédones apresentam pouco amido e pouco óleo; depois de guardadas alguns dias, completa-se o seu amadurecimento fisiológico e as suas células ficam cheias de gotas de óleo, conservando a mesma quantidade de amido.

Os tegumentos são dois: o externo, mais espêsso, e o interno; ambos tomam parte na formação da micrópila; constituem, finalmente, a película da semente.

O número e o aspecto das células das diferentes camadas que os constituem variam no decorrer do desenvolvimento do óvulo, sendo a película final bem diferente dos envoltórios iniciais.

A espessura total dos tegumentos aumenta durante o desenvolvimento da semente, em virtude de aumento do número e do tamanho das células. Entretanto, logo depois de colhida a semente, por perda de água, a película se reduz a duas epidermes, havendo entre elas, comprimidas, as paredes celulares das camadas que aí existiam. Os feixes vasculares alteram-se um pouco, formando a nervação bem visível que encontramos na película.

O crescimento da semente é, como foi numèricamente verificado, devido ao crescimento dos tegumentos, do qual resulta um grande aumento de volume da cavidade embrionária que vai sendo, ao mesmo tempo, ràpidamente preenchida pelos cotilédones do embrião.

#### CYTOLOGY OF SEED DEVELOPMENT IN THE PEANUT PLANT

##### SUMMARY

Several papers have been written on the development of the peanut seed, but none described the process from the beginning until the mature seed with enough detail; also no one described the transformations of the seed parts and related them with age or size.

The present observations began with ten-day old ovaries; ovaries older than twenty days were collected and studied according to their sizes. Measurements were taken from the length and width of both the ovule and embryo-sac, and also of the width of the integuments. The number of endosperm nuclei and the number of cells in the different integument layers was counted.

The peanut ovule is normal and has two integuments. The embryo-sac contains one embryo and the nuclei of the endosperm. No nucellar cells are found in ten-day old ovules. The endosperm is of the nuclear type, having a large number of nuclei before the cellular walls begin to form. The cellular walls progress from the periphery of the sac towards its center, and from the micropylar to the chalazal region. The nuclear division in the endosperm is very intense; the nuclei of the cellular endosperm are a little smaller than the free nuclei. The endosperm disappears when the seed is physiologically mature. The

embryo has two cotyledones; they grow to form the body of the seed; the cellular contents in the mature seed are chiefly oil. Increase in size of the seed is due to the growth of the integuments; this growth makes the volume of the embryonic cavity larger, which is rapidly filled by the cotyledones.

#### LITERATURA CITADA

1. BADAMI, V. K. Botany of Groundnut I. J. Mysore agric. Exp. Un. 14:188-194. 1935.
2. \_\_\_\_\_ Botany of Groundnut II. J. Mysore agric. Exp. Un. 15:59-70. 1935.
3. BANERJI, I. A note on the embryology of the groundnut (*Arachis hypogaea* L.). J. Bombay nat. Hist. Soc. 40:539-543. 1938.
4. RAO, V. S. The correlation between embryo and endosperm type. Ann. Bot., London (n. s.) 2:535-536. 1938.
5. REED, E. L. Anatomy, embryology and ecology of *Arachis hypogaea*. Bot. Gaz. 78:289-312. 1924.
6. SMITH, B. W. *Arachis hypogaea*. Normal megasporogenesis and syngamy with occasional single fertilization. Amer. J. Bot. 43:81-89. 1956.