

Morfo-anatomia do embrião de leguminosas arbóreas nativas

DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA¹

(recebido em 03/03/99; aceito em 14/09/99)

ABSTRACT - (Morphology and anatomy of the embryo of native leguminous trees). In order to characterize the embryonic axes of seeds of Fabaceae and to provide information about the systematics and phylogeny of this family, morphological and anatomical aspects of embryos were studied, especially embryonic axes of 15 native tree species in an attempt to correlate axis structures and affinity among genera, as well as genera in tribes. Foliaceous cotyledons in Caesalpinioideae, fleshy cotyledons in Faboideae, and foliaceous and fleshy cotyledons in Mimosoideae were observed. The embryonic axes ranged from short to long, being straight in Caesalpinioideae and Mimosoideae, and curved or deflexed in Faboideae. The plumules ranged from undifferentiated to differentiated. The undifferentiated plumules were found in species with no epicotyl, while differentiated plumules were arranged on the elongated epicotyl. The anatomy of the protoderm was undifferentiated in most species. Trichomes in differentiation were seen in *Caesalpinia leiostachya*, *Centrolobium tomentosum* and *Anadenanthera macrocarpa*, papillae in *Platypodium elegans*, and differentiated glandular and non-glandular trichomes in *Inga urugüensis*. The procambium was undifferentiated. The ground meristem showed starch accumulations in all the species. Druses were seen in *Peltophorum dubium*, and isolated polyhedral crystals in *Inga urugüensis* and in *Lonchocarpus muehlbergianus*. This latter species also showed secretory structures in the cotyledon node region.

RESUMO - (Morfo-anatomia do embrião de leguminosas arbóreas nativas). Objetivando caracterizar os eixos embrionários de sementes de espécies de Fabaceae e fornecer subsídios para trabalhos de sistemática e filogenia desta família, foram estudados aspectos morfológicos e anatômicos dos embriões, especialmente dos eixos embrionários, de 15 espécies arbóreas nativas, buscando correlações entre sua estrutura e a afinidade entre os diferentes gêneros e destes nas tribos. Observaram-se cotilédones foliáceos nas espécies de Caesalpinioideae, carnosos nas Faboideae e dos dois tipos nas Mimosoideae. Os eixos embrionários variaram de curtos a longos, sendo sempre retos nas espécies de Caesalpinioideae e Mimosoideae; nas Faboideae, encontraram-se eixos embrionários curvos ou inclinados. A plúmula variou de indiferenciada a diferenciada, o primeiro tipo ocorrendo em espécies sem epicótilo e o último disposto sobre epicótilo alongado. Anatomicamente, a protoderme se mostrou indiferenciada na maioria das espécies, podendo ocorrer tricomas em diferenciação (*Caesalpinia leiostachya*, *Centrolobium tomentosum* e *Anadenanthera macrocarpa*), papilas (*Platypodium elegans*) e tricomas tectores e glandulares diferenciados (*Inga urugüensis*). O procâmbio se manteve indiferenciado. O meristema fundamental mostrou acúmulo de amido em todas as espécies, ocorrendo drusas em *Peltophorum dubium* e cristais poliédricos isolados em *Inga urugüensis* e em *Lonchocarpus muehlbergianus*. Esta última espécie apresentou, ainda, estruturas secretoras na região do nó cotiledonar.

Key words - Fabaceae, Leguminosae, plumule, embryonic axis

Introdução

A família Fabaceae (Leguminosae) é tradicionalmente dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae, compreendendo cerca de 650 gêneros e 18000 espécies. É a maior família de Angiospermas depois de Asteraceae e Orchidaceae e, em importância econômica, equipara-se apenas a Poaceae (Gunn 1984). Tal diversidade morfológica origina uma série de problemas taxonômicos que tornam ramos, folhas e flores, objetos da Sistemática tradicional, insuficientes para solucionar. Informações a respeito dos órgãos reprodutivos das espécies dessa família vêm sendo utilizadas com grande eficiência para esse fim

(Gunn 1984, Lima 1985, Lima 1989). Desta forma, é cada vez maior a procura por informações a respeito dos frutos, sementes e plântulas de espécies de Fabaceae, de forma a complementar aquelas provenientes de órgãos vegetativos. Quando o interesse passa do campo taxonômico para o filogenético, a análise dos órgãos reprodutivos torna-se ainda mais indispensável.

Dentre os autores que ressaltam a importância de estudos básicos incluindo características morfológicas dos embriões, merece destaque o trabalho de Gunn (1984), que analisou a morfologia de frutos e sementes de diversos gêneros de Mimosoideae. Baseado neste estudo, o autor considerou que o grau de desenvolvimento da plúmula é um caráter útil na identificação de sementes e no estabelecimento de relações filogenéticas. O autor afirma, ainda, que dados sobre as plúmulas de leguminosas são raramente encontrados, o que dificulta a realização de

1. Departamento de Botânica, IB, UNESP, Caixa Postal 510, 18618-000 Botucatu, SP, Brasil. E-mail: doliveira@laser.com.br

análises taxonômicas e filogenéticas a partir dessas estruturas (Gunn 1981, 1984).

Lima (1985), que estudou morfológicamente os frutos e sementes dos gêneros da tribo Mimosae (Mimosoideae), também enfatizou a estrutura do embrião como caráter de grande valor taxonômico. A autora considerou que, dentre as estruturas embrionárias, a plúmula pode ser utilizada como bom caráter para os taxa por ela estudados, já que encontrou variados graus de desenvolvimento.

Como a morfologia de frutos e sementes exibe usualmente pequena plasticidade fenotípica, esses órgãos têm, conseqüentemente, indiscutível importância taxonômica. Os caracteres embriológicos, por sua vez, são usualmente constantes dentro de um gênero, funcionando como significativos indicadores da afinidade taxonômica supra-específica. Infelizmente, a carência de estudos descritivos e ontogenéticos da estrutura seminal torna muito difíceis as discussões a respeito das tendências evolutivas que afetaram a semente (Von Teichman & Van Wyk 1991). Somente concentrando esforços no sentido de ampliar os conhecimentos sobre a morfo-anatomia da semente e de outros órgãos reprodutivos, será possível resolver diversos problemas taxonômicos e estabelecer conexões filogenéticas mais precisas.

Tendo como base essas considerações, foram estudados morfo-anatomicamente os embriões de 15 espécies arbóreas nativas de Fabaceae, representantes das três subfamílias, com os objetivos de: descrever os embriões, especialmente o eixo embrionário, com ênfase no grau de desenvolvimento da plúmula; fornecer subsídios para trabalhos de sistemática e filogenia da família e, finalmente, verificar a existência de correlações entre a estrutura e a afinidade entre gêneros e destes nas várias tribos.

Material e métodos

Foram selecionadas 15 espécies de Fabaceae que ocorrem naturalmente na região de Botucatu, São Paulo, Brasil, estando agrupadas em duas tribos para cada subfamília, assim distribuídas: Subfamília Caesalpinioideae:

Tribo Caesalpinieae: *Caesalpinia leiostachya* Ducke (pau-ferro); *Dimorphandra mollis* Benth. (faveira); *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (canafístula);

Tribo Cassieae: *Cassia ferruginea* (Schrad.) Schrad. ex DC. (chuva-de-ouro); *Senna multijuga* (Rich.) Irwin & Barn. (pau-cigarra). Subfamília Faboideae:

Tribo Dalbergieae: *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth. (araribá); *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth. (jacarandá-da-Bahia); *Platyopodium elegans* Vog. (amendoim-do-campo);

Tribo Tephrosieae: *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (embira-de-sapo); *Platycomus regnellii* Benth. (pau-pereira).

Subfamília Mimosoideae:

Tribo Ingeae: *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (orelha-de-negro); *Inga urugüensis* Hook. & Arn. (ingá-do-brejo); *Pithecellobium inopinatum* Ducke (sete-cascas).

Tribo Mimosaeae: *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan (angico-vermelho); *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão).

As sementes foram obtidas na Coleção de Frutos e Sementes do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu. As sementes de *Inga urugüensis*, não disponíveis na coleção por serem recalcitrantes e não se conservarem a seco, foram coletadas em indivíduos ocorrentes no Campus da UNESP, no Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, São Paulo, Brasil. Todas as espécies utilizadas na realização deste trabalho tiveram alguns ramos herborizados e anexados ao Herbário Irina D. Gemtchujnicov (BOTU).

Para cada espécie, as sementes foram embebidas durante 24 horas em água destilada, de modo a facilitar a remoção do tegumento e do endosperma, quando presente. As sementes de tegumento impermeável foram escarificadas mecanicamente antes da embebição. Os eixos embrionários foram, então, isolados com auxílio de lâmina de barbear e fixados na mistura de Karnovsky (Karnovsky 1965) por 24 horas, sendo conservados em álcool etílico a 70%. Após desidratação em série etílica, o material foi incluído em historresina JB4 (Polysciences) e cortado em micrótomo com 8 µm de espessura, obtendo-se séries longitudinais e transversais. As seções obtidas foram coradas com azul de toluidina (O'Brien et al. 1964).

Alguns cortes foram submetidos a testes microquímicos, visando à detecção de determinadas substâncias nos eixos embrionários. Utilizaram-se os seguintes corantes ou reagentes: vermelho de rutênio, para identificar polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen 1962); sudan IV, para a localização de compostos lipofílicos; lugol, para a localização de amido e cloreto férrico, para verificar a ocorrência de compostos fenólicos, especialmente taninos (Johansen 1940).

Algumas sementes embebidas foram utilizadas para a análise das características morfológicas do embrião, que foram detalhadamente descritas.

Os tipos de plúmula foram denominados segundo a terminologia proposta por Oliveira (1997), composta por quatro tipos: plúmula indiferenciada, quando não se observa qualquer diferenciação plumular, terminando o eixo embrionário imediatamente após a inserção dos cotilédones; plúmula rudimentar, quando existe pequeno relevo acima do nó cotiledonar, sem contudo haver qualquer outra diferenciação; plúmula pouco diferenciada, quando existe o relevo além do nó cotiledonar e alguma partição ou reentrância apical, sem, no entanto, apresentar nítidos primórdios foliares; e plúmula diferenciada, quando há primórdios foliares distinguíveis, podendo ocorrer diferenciação foliolar, estipular e/ou estipelar.

Resultados

Caesalpinia leiostachya Ducke (figuras 1-3) – o embrião é axial, composto por dois cotilédones verdes, planos e foliáceos, unidos ao eixo embrionário branco e longo, com a extremidade radicular exposta; a plúmula mostra-se diferenciada.

O eixo embrionário é aproximadamente cilíndrico, sendo mais dilatado no ápice radicular, que apresenta primórdio de coifa delimitado por células pequenas. Toda a região hipocótilo-radicular do eixo exibe protoderme glabra, unisseriada, composta por células de conteúdo denso (figura 3); no epicótilo e plúmula (figuras 1-2), a protoderme apresenta pequenos tricomas em processo de diferenciação. O meristema fundamental preenche as regiões cortical e medular e é composto por células ricas em grãos de amido (figura 3). O procâmbio não apresenta grande diferenciação, consistindo de células alongadas de citoplasma denso. Nota-se também a presença da gema axilar do cotilédono, bem distinta (figura 2).

Dimorphandra mollis Benth. (figuras 4-6) – o embrião tem coloração amarelada e é composto por dois cotilédones foliáceos justapostos, inseridos no eixo embrionário espesso, curto e pouco diferenciado. A plúmula mostra-se, na análise externa, rudimentar.

O eixo embrionário não tem diferenciação do epicótilo (figura 4). A análise microscópica da plúmula (figura 4) revela uma bipartição, podendo ser referida como pouco diferenciada. A porção hipocótilo-radicular consiste de um cilindro curto e bem espesso, na extremidade do qual observa-se o primórdio de coifa (figuras 5-6). Toda a sua protoderme é glabra e constituída por células de conteúdo denso, sem reservas evidenciadas. O meristema fundamental cortical apresenta células densas, graças ao acúmulo de numerosos grãos de amido nas células dessa região. Na medula, o meristema fundamental também possui reserva amilácea, porém em células mais vacuolizadas. O procâmbio compõe-se de células alongadas, de citoplasma denso e sem reservas, indiferenciadas.

Peltophorum dubium (Spreng.) Taub. (figuras 7-10) – o embrião é axial, composto por dois cotilédones foliáceos planos e justapostos, de coloração amarelo-esverdeada, unidos ao eixo embrionário esbranquiçado, exposto pela reentrância basal cotiledonar. O eixo embrionário é bem definido, embora com a pequena plúmula pouco diferenciada.

O eixo embrionário tem seção longitudinal elíptica, evidenciando primórdio de coifa na extremidade radicular e plúmula (figuras 7-8) com inci-

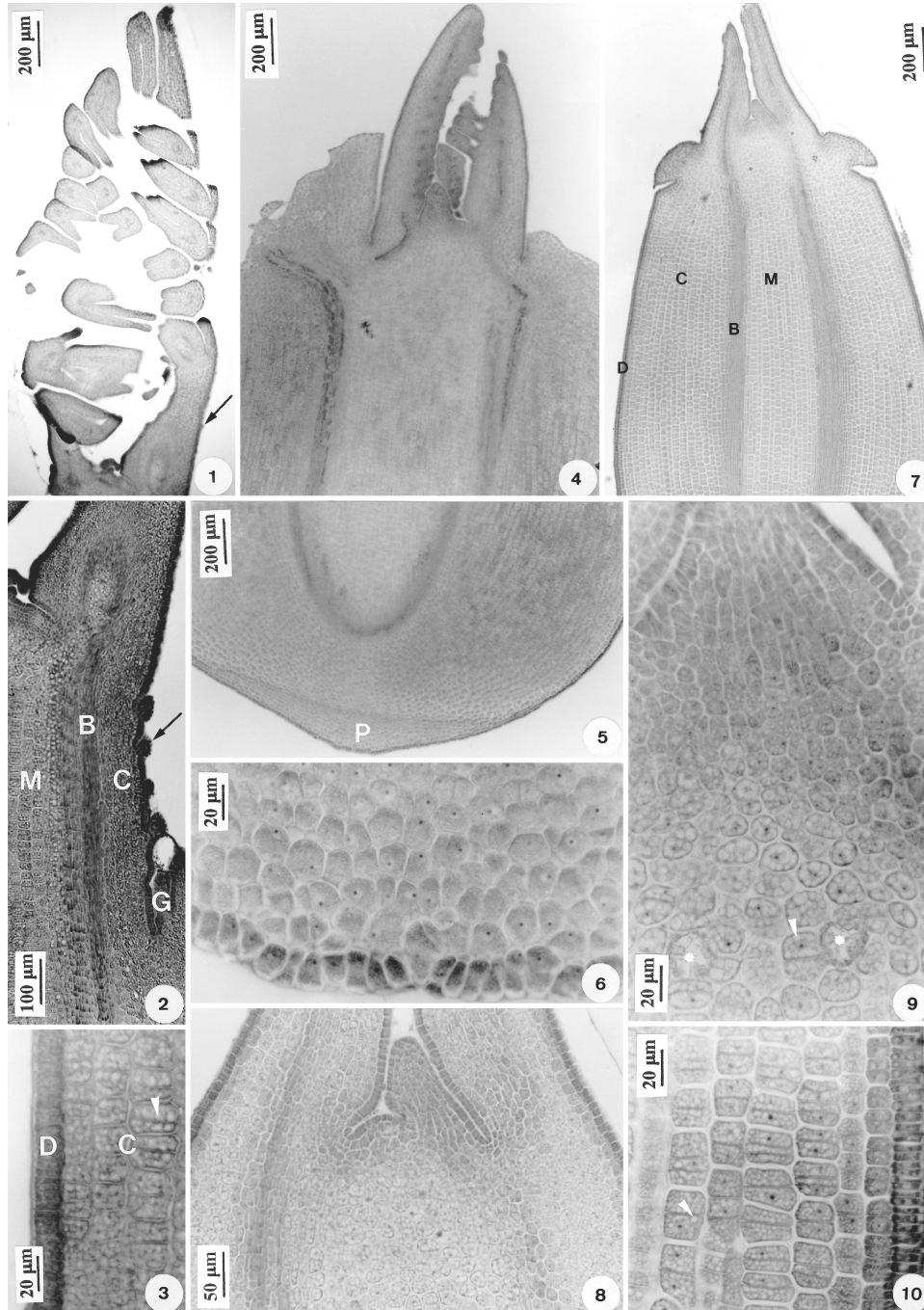
ção mediana profunda e ligeiramente sinuosa, sem primórdios foliares, conferindo com a observação macroscópica. A protoderme (figura 10) é glabra e consiste de células densas, recobertas por cutícula delgada, mas evidente. Tanto no córtex quanto na medula, o meristema fundamental exibe muitos grãos de amido de pequeno tamanho (figuras 9-10); idioblastos contendo drusas ocorrem dispersos na medula (figura 9).

Cassia ferruginea (Schrad.) Schrad. ex DC. (figuras 11-12) – o embrião é axial, composto por dois cotilédones sinuosos, foliáceos e esverdeados que, em seção transversal, mostram vários cordões procambiais muito nítidos. O eixo hipocótilo-radicular é branco, curto e espesso, totalmente exposto na base dos cotilédones. A plúmula é pouco diferenciada.

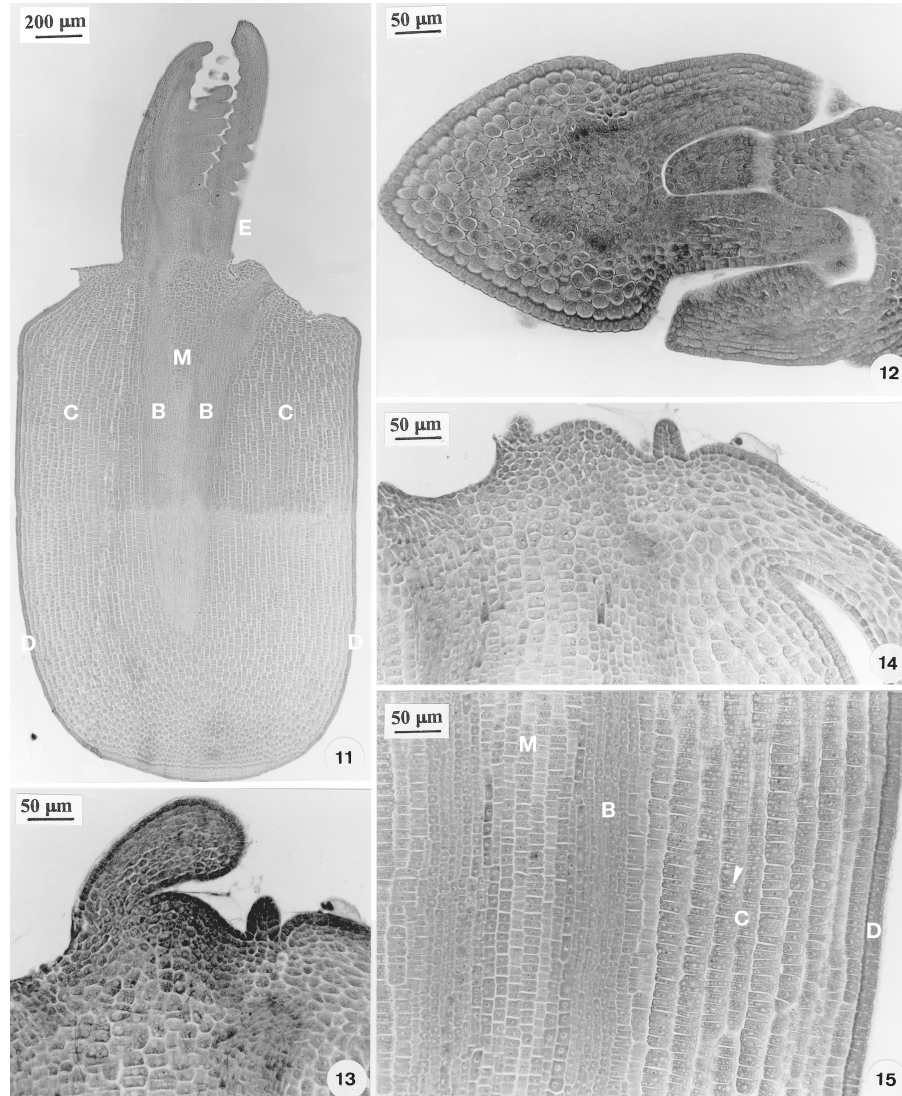
O eixo embrionário (figura 11) mostra epicótilo muito curto e plúmula bipartida, na qual se delineiam contornos que precedem a formação dos folíolos. Os dois primórdios foliares encontram-se dobrados pela nervura central, um sobre o outro (figura 12). Na extremidade radicular também se observa o primórdio de coifa (figura 11). A protoderme, glabra em toda sua extensão (figura 11), é constituída por células de citoplasma denso, tal como as do procâmbio, estas mais alongadas. O meristema fundamental do córtex e medula apresenta suas células preenchidas por muitos grãos de amido.

Senna multijuga (Rich.) Irwin & Barn. (figuras 13-15) – o embrião é axial e constituído por cotilédones foliáceos, verde-claros, delgados, com venação evidente nas duas faces, unidos pelas bases ao eixo embrionário proporcionalmente longo e de coloração branca, voltado lateralmente, prendendo-se aos cotilédones em ângulo obtuso. A plúmula é indiferenciada.

Verifica-se pequeno diâmetro do eixo embrionário em proporção ao seu comprimento. A extremidade radicular não mostra primórdio diferenciado de coifa, mas sua protoderme encontra-se recoberta por cutícula mais espessa que o restante do eixo. A plúmula está realmente indiferenciada (figuras 13-14), sendo o meristema apical acompanhado somente de duas pequenas projeções que não chegam a recobri-lo. Toda a protoderme é glabra. O meristema fundamental é típico tanto no córtex quanto na medula (figura 15), possuindo reserva



Figuras 1-10: Tribo Caesalpinieae (seções longitudinais). 1-3: *Caesalpinia leiostachya*: 1: plúmula; 2: detalhe do epicótilo, mostrando tricomas em diferenciação na protoderme e gema axilar do cotilédone; 3: detalhe da protoderme e meristema fundamental; 4-6: *Dimorphandra mollis*: 4: plúmula; 5: extremidade radicular do eixo embrionário, com primórdio de coifa; 6: detalhe do primórdio de coifa; 7-10: *Peltophorum dubium*: 7: porção caulinar do eixo embrionário; 8: detalhe da plúmula; 9: detalhe do meristema fundamental na região do nó cotiledonar, mostrando cristais; 10: detalhe da protoderme e do meristema fundamental. (▶: grãos de amido, →: tricomas em diferenciação, *: cristais, B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, G: gema axilar do cotilédone, M: meristema fundamental medular, P: primórdio de coifa).

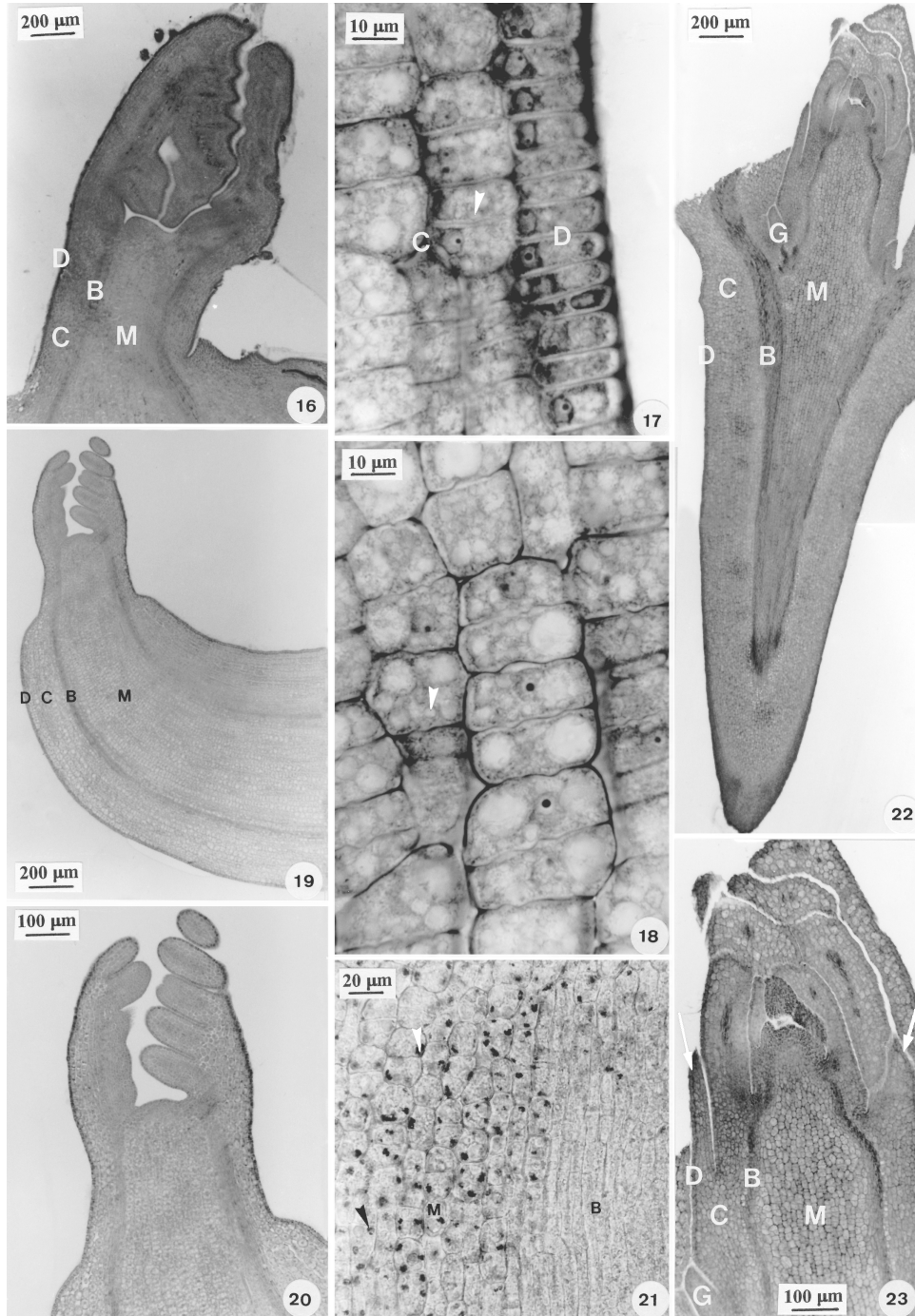


Figuras 11-15: Tribo Cassieae (seções longitudinais, exceto 12, que é transversal). 11-12: *Cassia ferruginea*: 11: eixo embrionário; 12: plúmula; 13-15: *Senna multijuga*: 13-14: aspectos da plúmula; 15: detalhe da protoderme, meristema fundamental e procâmbio. (►: grãos de amido, B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, E: epicótilo, M: meristema fundamental medular).

amilácea em células pouco vacuolizadas. O procâmbio consta de células alongadas e densas, sem maiores diferenciações (figura 15).

Centrolobium tomentosum Guill. ex Benth. (figuras 16-18) – o embrião esbranquiçado é composto por dois cotilédones carnosos facilmente distintos, plano-convexos e assimétricos, unidos pelo eixo hipocótilo-radícula grande, não ereto e vigoroso. A plúmula mostra-se pouco diferenciada.

Embora o eixo embrionário pareça curvo numa análise inicial, anatomicamente verifica-se que o epicótilo curto e a plúmula pouco diferenciada (figura 16) estão inclinados em relação ao nó cotiledonar e à porção hipocótilo-radicular do eixo, formando ângulo obtuso. O ápice radicular é assimétrico e não se pode observar primórdio de coifa. A protoderme do eixo hipocótilo-radícula (figura 17) é glabra, exceto na plúmula, onde exibe alguns tricomas em início de diferenciação (figura



Figuras 16-23: Tribo Dalbergieae (seções longitudinais). 16-18: *Centrolobium tomentosum*: 16: plúmula; 17: detalhe do epicótilo, mostrando protoderme e meristema fundamental cortical; 18: detalhe do meristema fundamental medular; 19-21: *Dalbergia nigra*: 19: porção caulinar do eixo embrionário; 20: detalhe da plúmula; 21: detalhe do procâmbio e meristema fundamental medular; 22-23: *Platypodium elegans*: 22: eixo embrionário; 23: detalhe da plúmula, mostrando primórdios de catáfilos. (▶: grãos de amido, —▶: primórdio de catáfilo, B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, G: gema axilar do cotilédono, M: meristema fundamental medular).

16). O meristema fundamental cortical (figura 18) possui células mais coesas e menos vacuolizadas que as medulares, ambas apresentando reserva amilácea. O procâmbio é nítido em todo o eixo, constituído por células longas e de citoplasma denso, justapostas.

Dalbergia nigra (Vell.) Fr. All. ex Benth. (figuras 19-21) – o embrião apresenta-se de cor amarelada. Os dois cotilédones são plano-convexos e não muito espessos, unidos pelo eixo hipocótilo-radícula bem curvo e nítido. A plúmula é pouco diferenciada.

A porção radicular do eixo embrionário tem maior diâmetro, afinando em direção ao ápice, que não tem primórdio de coifa, e também no sentido hipocotilar. O epicótilo é muito curto (figuras 19-20), sustentando a plúmula pouco diferenciada (figuras 19-20), contendo os primeiros recortes que constituirão os folíolos dos dois primeiros eófilos na plântula. As células protodérmicas são densas e não demonstram formação de tricomas. O meristema fundamental apresenta células grandes, vacuolizadas e com muitos grãos de amido (figura 21), exceto nas extremidades radicular e plumular. Procâmbio evidente, constando de células alongadas e densas (figura 21).

Platygodium elegans Vog. (figuras 22-23) – o embrião amarelado é constituído por dois cotilédones carnosos, plano-convexos, de seção transversal levemente assimétrica, unidos pelo curto eixo embrionário em ângulo aproximadamente reto. A plúmula mostra-se pouco diferenciada.

O eixo embrionário é aproximadamente sagitado (figura 22), com a extremidade radicular aguda exibindo primórdio de coifa, composto por pequenas células bem densas. Apesar do pequeno comprimento, o epicótilo está diferenciado e é proporcionalmente longo (figura 22), com a plúmula pouco diferenciada, mas de estrutura complexa, visto que apresenta primórdios de catáfilos além dos folíolos pouco desenvolvidos (figura 23). A protoderme é constituída por células de densidade ligeiramente maior que as demais, destacando-se por exibir as paredes periclinais externas levemente arqueadas, tendendo a papilosas. No meristema fundamental tanto cortical quanto medular, as células mostram acúmulo de pequenos grãos de amido, sendo bem

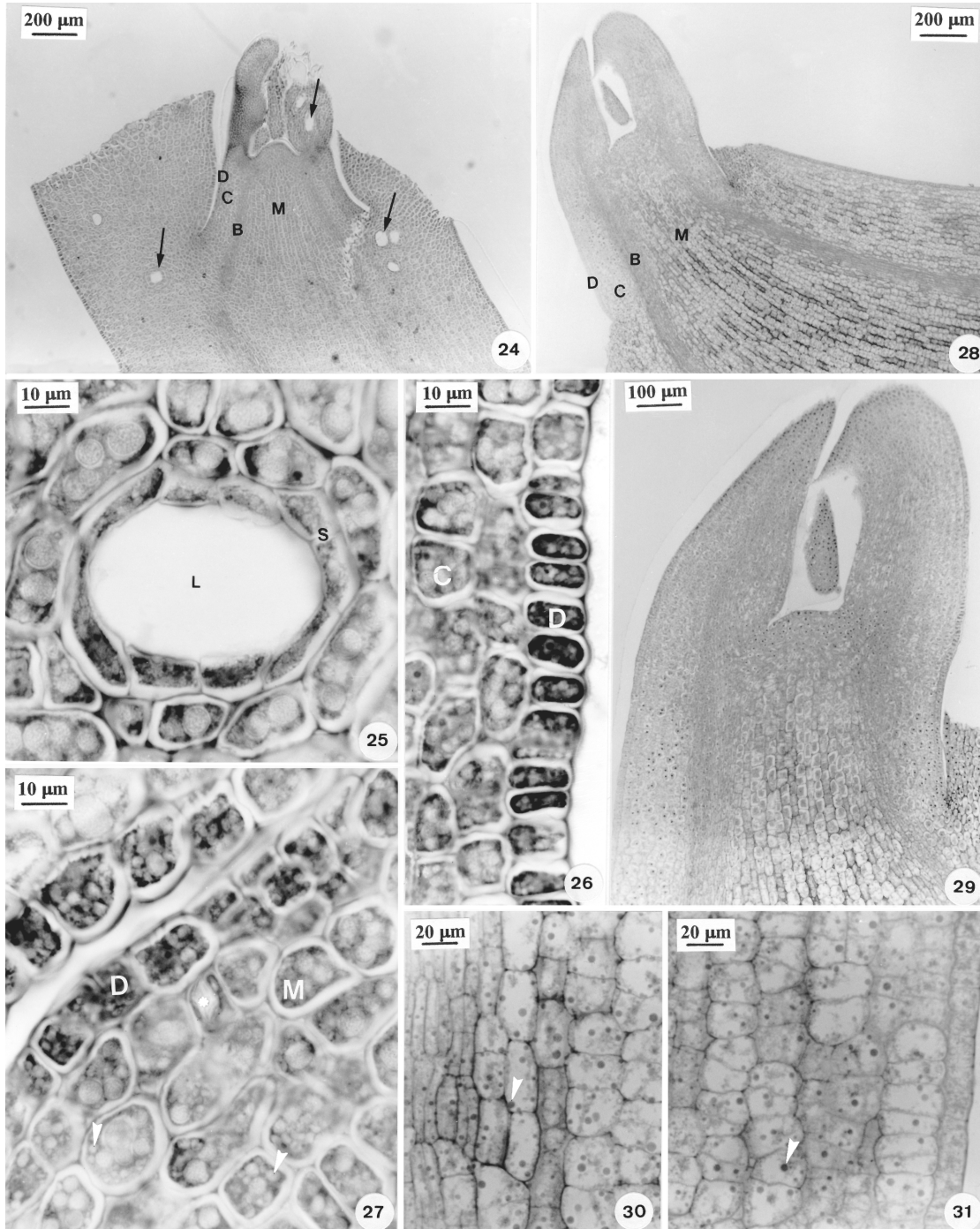
vacuolizadas, especialmente nas proximidades dos densos e indiferenciados cordões procambiais. Também são distintas as gemas axilares cotiledonares (figuras 22-23).

Lonchocarpus muehlbergianus Hassl. (figuras 24-27) – o embrião, de coloração amarelada, conta com dois cotilédones carnosos reniformes, praticamente planos, que se ligam ao proporcionalmente reduzido eixo embrionário, que é quase cilíndrico e com plúmula pouco diferenciada.

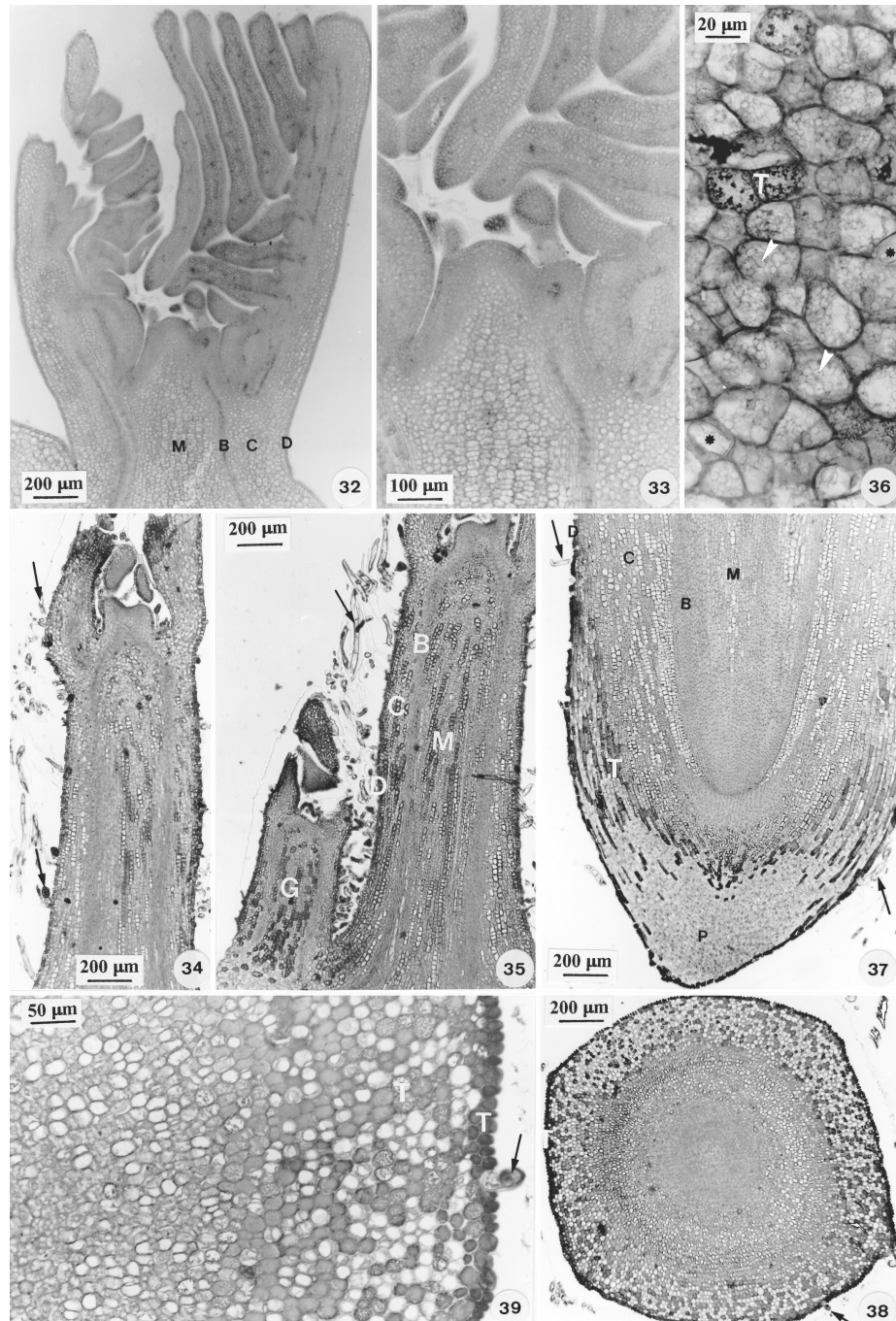
O eixo embrionário apresenta o nó cotiledonar assimétrico, observando que se forma um ângulo obtuso entre o epicótilo e o hipocótilo do eixo (figura 24). A região hipocótilo-radicular é quase cilíndrica, verificando-se estreitamento da extremidade radicular, também ligeiramente assimétrica. O epicótilo é bastante curto (figura 24), sustentando a plúmula pouco diferenciada, notando-se bipartição apical pouco pronunciada. A protoderme é glabra e densa em toda a sua extensão (figura 26). O procâmbio constitui densos cordões celulares. Já o meristema fundamental (figuras 26-27) apresenta células contendo reserva de amido tanto no córtex quanto na medula, ocorrendo maior vacuolização nestas últimas. Cristais poliédricos de oxalato de cálcio podem ser observados dispersos no tecido fundamental (figura 27). O aspecto mais interessante deste eixo embrionário é a ocorrência de estruturas secretoras (figura 25) que consistem de espaços bem delimitados por epitélios constituídos por células densas, em todo o meristema fundamental, mais freqüentes na região cortical próxima ao nó cotiledonar (figura 24).

Platygyamus regnellii Benth. (figuras 28-31) – o embrião é constituído por dois cotilédones reniformes pouco espessos, de coloração verde clara, unidos pelo eixo hipocótilo-radícula curvo e longo, branco, com plúmula pouco diferenciada.

A curvatura do eixo embrionário realmente existe, mas é discreta, resultando em leve assimetria do nó cotiledonar e desvio na posição da plúmula, nítida sobre o curto epicótilo (figura 28). A plúmula é confirmada como pouco diferenciada, uma vez que existe somente a bipartição apical (figuras 28-29). Na extremidade radicular, um nítido primórdio de coifa, constituído por células densas e de pequeno



Figuras 24-31: Tribo Tephrosieae (seções longitudinais). 24-27: *Lonchocarpus muehlbergianus*: 24: plúmula; 25: detalhe da estrutura secretora observada no meristema fundamental; 26: detalhe da protoderme e meristema fundamental cortical; 27: detalhe do epicótilo, mostrando cristal; 28-31: *Platycamus regnellii*: 28: porção caulinar do eixo embrionário; 29: plúmula; 30: detalhe do procâmbio e meristema fundamental; 31: detalhe da protoderme e do meristema fundamental. (►: grãos de amido, ►►: estruturas secretoras, *: cristal, B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, G: gema axilar do cotilédone, L: lúmen da estrutura secretora; M: meristema fundamental medular, S: epitélio secretor).



Figuras 32-39: Tribo Ingeae (seções longitudinais, exceto 38-39, que são transversais). 32-33: *Enterolobium contortisiliquum*: 32: epicótilo e plúmula; 33: detalhe da plúmula; 34-39: *Inga edulis*: 34: epicótilo e plúmula; 35: aspecto do epicótilo com gema axilar do cotilédone; 36: detalhe do meristema fundamental, mostrando idioblastos taniníferos e cristalíferos; 37: extremidade radicular do eixo embrionário, com primórdio de coifa delimitado por numerosos idioblastos taniníferos; 38: detalhe do ápice radicular, na região do primórdio de coifa; 39: detalhe da figura 38. (▶: grãos de amido, —: tricomas diferenciados, *: cristais, B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, G: gema axilar do cotilédone, M: meristema fundamental medular, P: primórdio de coifa; T: idioblasto taninífero).

tamanho, pode ser reconhecido. A protoderme possui células densas e coesas (figura 31), o que também ocorre com as longas células do procâmbio (figura 30). A vacuolização é elevada em todas as células do meristema fundamental (figuras 30-31), exceto na plúmula e extremidade radicular. Essas células acumulam amido e, especialmente na medula, exibem numerosos meatos.

Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong (figuras 32-33) – o embrião possui dois cotilédones amarelados carnosos, plano-convexos, na base dos quais se verifica uma fissura longa e pouco profunda, que atinge quase a metade do seu comprimento. O eixo embrionário é branco, reto e bem diferenciado, com pequena porção da extremidade radicular permanecendo visível na base dos cotilédones. A plúmula é diferenciada, estando delineados os primórdios foliares dos dois eófilos iniciais.

O vigoroso eixo embrionário demonstra pequena diferenciação, exceto na plúmula (figuras 32-33). Esta tem os dois primórdios multifoliolados, apresentando-se dobrados uns sobre os outros, encobrindo o meristema apical (figura 32). O epicótilo é distinto, embora de reduzido comprimento e pequena diferenciação. A protoderme é densa em todo o eixo, assim como o procâmbio. As células meristemáticas fundamentais, no entanto, são muito vacuolizadas (figura 33), tanto no córtex quanto na medula, regiões em que acumulam amido.

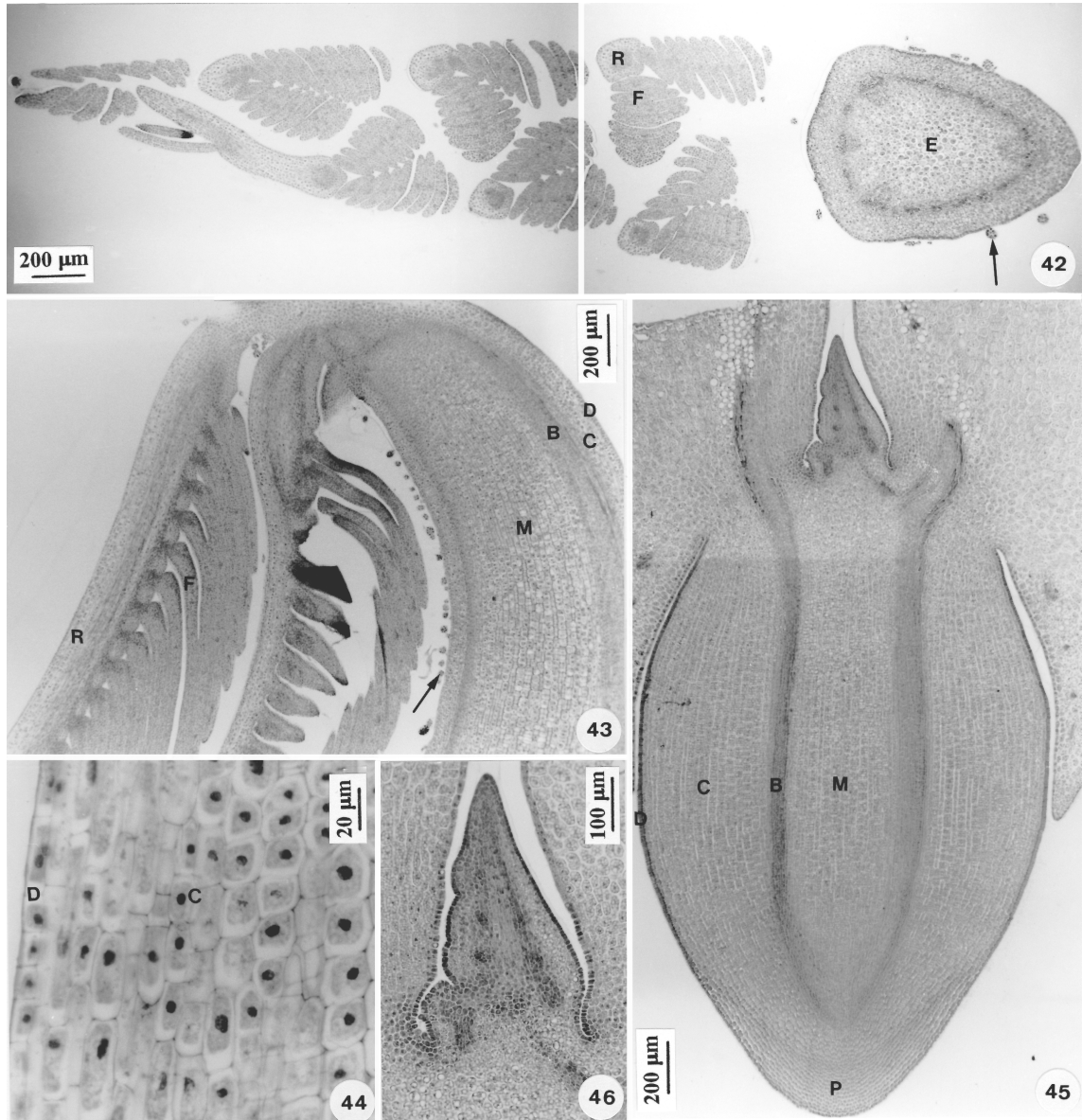
Inga urugiënsis Hook. & Arn. (figuras 34-39) – o embrião apresenta dois cotilédones verde-escuros, plano-convexos e carnosos, com uma incisão basal nítida, cuja extensão atinge cerca de um terço do comprimento dos cotilédones e que não permite a observação externa do eixo hipocótilo-radícula. Este é reto e curto, coberto por densa pilosidade, com epicótilo e plúmula bem diferenciados, podendo-se encontrar primórdios foliares já delimitados.

Os primórdios foliares da plúmula são realmente bem diferenciados (figura 34), mesmo sem apresentarem subdivisões em muitos folíolos. O epicótilo (figuras 34-35) é muito alongado, verificando-se também, na região nodal cotiledonar, as gemas axilares muito distintas, inclusive com



Figuras 40-41: Tribo Ingeae: *Pithecellobium inopinatum* (seções longitudinais). 40: epicótilo e plúmula, com dois primórdios foliares opostos, com folíolos dobrados; 41: detalhe da plúmula. (B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, M: meristema fundamental medular).

primórdios foliares (figura 35). Na porção hipocótilo-radicular do eixo embrionário, também há diferenciação, distinguindo-se o primórdio da coifa (figura 37).



Figuras 42-46: Tribo Mimoseae (seções longitudinais, exceto 42, que é transversal). 42-44: *Anadenanthera macrocarpa*: 42-43: aspectos da plúmula e epicótilo; 44: detalhe da protoderme e meristema fundamental; 45-46: *Stryphnodendron adstringens*: 45: eixo embrionário; 46: detalhe da plúmula. (→): tricomas em diferenciação, B: procâmbio, C: meristema fundamental cortical, D: protoderme, E: epicótilo; F: folíolo; M: meristema fundamental medular, P: primórdio de coifa; R: ráquis).

A protoderme de todo o eixo embrionário mostra-se taninífera e exibe numerosos tricomas tectores e glandulares, em avançado estágio de diferenciação (figuras 34-35 e 37-39). O meristema fundamental apresenta células com variados graus de vacuolização, armazenando grãos de amido (figuras 34-39). Dispersos nesse tecido,

encontram-se numerosos idioblastos cristalíferos (figura 36) e taniníferos (figuras 34-39), fazendo, estes últimos, a delimitação da coifa no ápice radicular (figura 37). Células contendo taninos são mais raras somente na medula do eixo embrionário (figuras 37-39). O procâmbio permanece indiferenciado.

Pithecellobium inopinatum Ducke (figuras 40-41) – o embrião é composto por dois cotilédones amarelados e carnosos, plano-convexos, que exibem somente pequena porção da extremidade radicular do eixo embrionário branco. A plúmula é bem diferenciada, verificando-se a presença de dois grandes primórdios foliares.

O eixo embrionário só exhibe elaboração na plúmula, a qual apresenta longos primórdios foliolares (figura 40), distribuídos em dois eófilos, dobrados uns sobre os outros numa complexa estrutura achatada. O restante do eixo embrionário possui estrutura simples, consistindo de protoderme e procâmbio densos (figura 41) e meristema fundamental composto por células variavelmente vacuolizadas, reservando amido.

Anadenanthera macrocarpa (Benth.) Brenan (figuras 42-44) – o embrião, de coloração amarela clara, compõe-se de dois cotilédones planos, foliáceos, de contorno aproximadamente circular, com uma fenda basal que termina no ponto de inserção destes no eixo hipocótilo-radícula, que é curto e reto, exposto pela incisão basal dos cotilédones. A plúmula é diferenciada, com folíolos e estipela delimitados.

A plúmula (figuras 42-43) apresenta-se dobrada sobre o longo arqueado epicótilo num ângulo de cerca de 180°. Numerosos folíolos multifoliolulados distinguem-se na plúmula (figura 42), onde ráquis e folíolulos são visíveis. A porção hipocótilo-radicular do eixo não demonstra grande diferenciação.

A protoderme é densa em toda sua extensão, sendo glabra no eixo hipocótilo-radícula (figura 44) e com numerosos tricomas em diferenciação no epicótilo (figuras 42-43). O procâmbio é constituído por células longas e densas, indiferenciadas. O meristema fundamental cortical é reduzido, comparado com a ampla medula (figuras 42-43); compõe-se por células grandes e vacuolizadas (figura 44), que reservam amido. Nas extremidades radicular e epicotilar, o grau de vacuolização das células é menor.

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (figuras 45-46) – o embrião é axial, constituído por dois cotilédones foliáceos, de coloração amarelada, sendo brilhantes na face externa e foscas na interna. Pequena reentrância basal expõe a extremidade do eixo embrionário, curto e muito grosso, de cor bran-

ca. Macroscopicamente, a plúmula mostra-se pouco diferenciada.

Anatomicamente, observa-se que a plúmula demonstra incisão de pequeno tamanho disposta lateralmente, estando próxima ao padrão rudimentar. O eixo embrionário tem formato aproximadamente elíptico (figura 45), havendo na extremidade radicular um primórdio de coifa (figura 45). A protoderme é totalmente glabra (figuras 45-46), constituída por células de citoplasma denso. O procâmbio exhibe células alongadas, de conteúdo mais denso no nó cotiledonar (figura 45). O meristema fundamental está regularmente distribuído no córtex e na medula (figuras 45-46); suas células variavelmente vacuolizadas acumulam grãos de amido.

Discussão

A utilização de informações anatômicas com propósitos taxonômicos tem se tornado freqüente e, muitas vezes, é uma das mais adequadas ferramentas para a solução de alguns impasses. No entanto, é importante estar atento ao abuso da inclusão de dados anatômicos em trabalhos de tal natureza, visto que muitas vezes o taxonomista utiliza material herborizado para análise anatômica, situação em que a maioria dos tecidos não está bem preservada. Bailey (1951) já alertava para esse fato, concordando que dados significativos podem ser obtidos nesse tipo de trabalho, desde que se associe o material herborizado a material especialmente coletado e preservado para estudos anatômicos.

Compartilhando das preocupações de Bailey (1951), pode-se destacar que um dos órgãos vegetais mais bem preservados em herbários e coleções é a semente, estrutura que retém grande potencial de utilização em estudos morfo-anatômicos com finalidades taxonômicas. Isso ocorre porque, na maturidade, a maioria das espécies já apresenta as sementes desidratadas, próximas às condições em que são mantidas nos herbários e coleções de sementes. Utilizando sementes, o taxonomista não teria, grande parte das vezes, dificuldades em encontrar material bem preservado, em condições de subsidiar precisas verificações estruturais.

O interesse em utilizar a estrutura seminal com finalidades taxonômicas não é novo. Uma das referências mais antigas de utilização de características embriológicas para definir grupos vegetais é a de

De Candolle (1825 apud Gunn 1981), que conferiu grande importância aos caracteres do embrião, dividindo a família Fabaceae em duas subfamílias: Curviembriae e Rectembriae, incluindo na primeira as Faboideae e, na segunda, Caesalpinioideae e Mimosoideae. Por ser muito geral e abranger grande número de exceções, esta divisão não se manteve. Mais de um século depois, Isely (1955) resgatou esta separação das Fabaceae em dois grandes grupos, com base na orientação do embrião.

Analisando os dados descritos neste trabalho, confirma-se a afinidade entre os eixos embrionários de espécies de Caesalpinioideae e Mimosoideae, quando comparados às Faboideae. Nesta subfamília, verificou-se a ocorrência de curvatura nos eixos embrionários de *Dalbergia nigra* e *Platycyamus regnellii* e, nos demais, variados graus de inclinação do nó cotiledonar, refletidos na ocorrência de ângulos retos a obtusos entre cotilédones e eixos embrionários. *Platypodium elegans*, por exemplo, apresenta o eixo embrionário em ângulo de 90° com o comprimento dos cotilédones e, em *Lonchocarpus muehlbergianus*, a inclinação é de cerca de 180°.

Observando, por sua vez, os eixos embrionários das Caesalpinioideae e Mimosoideae, nota-se que são retos e geralmente expostos na base dos cotilédones. A variação que mais chama a atenção nesse grupo ocorre em *Senna multijuga*, cujo eixo embrionário apresenta, em sua porção exposta, inclinação para a lateral da semente, sem contudo alterar a estrutura nodal cotiledonar.

Também o valor taxonômico das variações morfológicas dos cotilédones das Fabaceae foi reconhecido há muito, desde os trabalhos de De Candolle (1825 apud Gunn 1981) e de Compton (1912). Em seu estudo sobre as sementes de várias espécies de Mimosoideae, Bravato (1974) concluiu que os cotilédones constituem a parte do embrião de maior importância para a caracterização dos gêneros desta subfamília.

Neste trabalho, não foram encontradas variações expressivas nos cotilédones das espécies estudadas. Em Caesalpinioideae, os cotilédones mostraram-se foliáceos e, nas Faboideae, carnosos. A variação realmente ocorreu nas Mimosoideae, onde Ingeae apresentou cotilédones carnosos e Mimoseae exibiu cotilédones foliáceos.

É interessante notar que, das tribos amostradas neste estudo, Dalbergieae, Tephrosieae (Faboideae)

e Ingeae (Mimosoideae) são tidas como mais evoluídas, em comparação com as demais (Polhill et al. 1981). Desta forma, a ocorrência de cotilédones carnosos, similares nessas três tribos, pode ser vista como uma tendência derivada, enquanto que os cotilédones foliáceos são, notadamente, estruturas mais primitivas.

O valor taxonômico e filogenético da morfologia do eixo embrionário, em especial da plúmula, foi inicialmente reconhecido por Gunn (1984). Estudando a morfologia dos frutos e sementes de espécies da tribo Mimoseae (Mimosoideae), Lima (1985) verificou que as plúmulas variaram de rudimentares a bem desenvolvidas e diferenciadas, reconhecendo que esse aspecto é de interesse na sistemática do grupo.

De modo geral, a literatura apresenta raras descrições sobre eixos embrionários e, quando elas existem, não seguem padrões que permitam comparações. As referências mais comuns dizem respeito à radícula, que é geralmente muito pequena e reta em Caesalpinieae (Polhill & Vidal 1981) e reta ou curva em Dalbergieae (Polhill 1981a) ou Tephrosieae (Geesink 1981). Essas informações gerais estão de acordo com as observações deste trabalho, exceto para *Caesalpinia leiostachya* (Caesalpinieae), cujo eixo hipocótilo-radícula é longo.

Quanto à diferenciação do epicótilo, observa-se nítida correlação com o desenvolvimento da plúmula. Enquanto *Senna multijuga* não possui epicótilo distinto e sua plúmula é indiferenciada, espécies como *Caesalpinia leiostachya*, *Inga urugüensis* e *Anadenanthera macrocarpa* têm plúmulas diferenciadas sobre longos epicótilos. A situação intermediária também se mostra verdadeira: plúmulas pouco diferenciadas de *Cassia ferruginea*, *Centrolobium tomentosum* e *Platycyamus regnellii*, por exemplo, ocorrem junto a epicótilos curtos, porém distintos.

No que se refere à variação dos tipos de plúmula nas subfamílias, Caesalpinioideae exibe os mais diversos tipos. Prevaecem, no entanto, plúmulas com menor grau de diferenciação, especialmente na tribo Cassieae que, segundo Kirkbride et al. (1994), representa bem a subfamília. Nas Faboideae, tanto as espécies estudadas de Dalbergieae quanto de Tephrosieae mostram plúmulas pouco diferenciadas.

Kirkbride et al. (1994) relacionaram filogeneticamente diversos dados conhecidos sobre frutos e se-

mentes de tribos de Mimosoideae, concluindo que, nesta subfamília, as tribos Ingeae e Mimoseae são as mais próximas. Coincidentemente, estas foram as tribos amostradas neste estudo e que, com exceção de *Stryphnodendron adstringens*, apresentaram espécies com plúmulas bem diferenciadas.

Quanto à diferenciação de células e tecidos, observaram-se numerosas semelhanças e diferenças entre as espécies estudadas. Os eixos embrionários das 15 espécies exibiram protoderme composta por células justapostas, de conteúdo denso. Em nove destas espécies, a protoderme é glabra e verificam-se tricomas em diferenciação em três. Em *Platypodium elegans*, as protodermes radicular, hipocotilar e epicotilar tendem a papilosas e, em *Inga urugüensis*, verificam-se numerosos tricomas tectores e glandulares já diferenciados. Esta última espécie também é taninífera, ocorrendo idioblastos tanto na protoderme quanto no meristema fundamental, em especial na região cortical.

O procâmbio mostrou-se indiferenciado em todas as espécies, constituído por células mais ou menos alongadas, justapostas e de citoplasma denso.

No meristema fundamental, residem as maiores diferenças. O amido é comum a todas as espécies, ocorrendo em células corticais e medulares, cujo grau de vacuolização varia. Idioblastos taniníferos ocorrem dispersos pelo meristema fundamental cortical de *Inga urugüensis*, sendo menos frequentes na medula.

Merece destaque a ocorrência de estruturas secretoras no eixo embrionário de *Lonchocarpus muehlbergianus*. Estudos mais detalhados devem ser conduzidos para definir a época de formação das estruturas na embriogênese, bem como a natureza das substâncias secretadas.

Outra característica interessante das células do meristema fundamental é a formação de cristais em algumas espécies. Geralmente relacionados a órgãos adultos, principalmente vegetativos, encontrou-se referência de cristais somente no embrião de *Glycine gracilis* e *G. max*, da tribo Phaseoleae (Zindler-Frank 1987). Apesar do conhecimento sobre cristais em leguminosas ser ainda restrito, drusas foram referidas somente para a subfamília Caesalpinioideae, enquanto que as demais geralmente produzem cristais solitários (Zindler-Frank 1987). Os dados ora apresentados reforçam esta postura: observam-se cris-

tais nos eixos embrionários de três espécies, uma de cada subfamília, sendo que somente *Peltophorum dubium* forma drusas; em *Lonchocarpus muehlbergianus* e *Inga urugüensis*, formam-se cristais poliédricos isolados.

Diante do exposto, conclui-se que, em relação ao eixo embrionário, há pequena variação entre as espécies de Caesalpinioideae, considerando-se as duas tribos estudadas em conjunto. Dentre as Faboideae, a maior elaboração foi observada em *Lonchocarpus muehlbergianus*, especialmente na constituição meristemática fundamental. A maior diferenciação, no entanto, ocorreu mesmo em *Inga urugüensis*, onde se observaram protoderme e meristema fundamental muito elaborados, além de grande diferenciação plumular e na gema axilar dos cotilédones. Ao comparar esta situação com a seqüência filogenética proposta por Polhill (1981b) e Polhill et al. (1981), nota-se que a tribo Ingeae é realmente tida como bastante evoluída dentre as Mimosoideae e que Tephrosieae, tribo que engloba *Lonchocarpus*, também o é, em relação a Dalbergieae. Dentre as Caesalpinioideae, o gênero *Dimorphandra* tem sido considerado parte do grupo mais primitivo, do qual derivam os demais gêneros, inclusive as próprias Mimosoideae.

Conclui-se portanto que, apesar do pequeno número de espécies amostradas nesse trabalho, os dados embrionários, especialmente relativos à plúmula, são promissores para o entendimento das relações filogenéticas da família Fabaceae, merecendo o tema novos investimentos que incrementem o número de espécies e tribos estudadas.

Agradecimentos - À Acadêmica Adriana Tiemi Nakamura, pela confecção de parte do laminário. Ao Biólogo José Flávio Cândido Júnior, pelas indispensáveis sugestões e auxílio na confecção de lâminas e pranchas. À FAPESP, pelo auxílio referente ao Processo nº 98/04781-5.

Referências bibliográficas

- BAILEY, I.W. 1951. The use and abuse of anatomical data in the study of phylogeny and classification. *Phytomorphology* 1:67-69.
- BRAVATO, M. 1974. Estudio morfológico de frutos e semillas de las Mimosoideae (Leguminosae) de Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 9:317-361.
- COMPTON, R.H. 1912. An investigation of the seedling structure in the Leguminosae. *The Journal of the Linnean Society of London Botany* 41:1-122.

- GEESINK, R. 1981. Tephrosieae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew. v.1, p.245-260.
- GUNN, C.R. 1981. Seeds of Leguminosae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew. v.2, p.913-925.
- GUNN, C.R. 1984. Fruits and seeds of genera in the subfamily Mimosoideae (Fabaceae). *Technical Bulletin* 1681:1-194.
- ISELY, D. 1955. Observations on seeds of the Leguminosae: Mimosoideae and Caesalpinioideae. *Proceedings of the Iowa Academy of Science* 62:142-145.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W.H. Freeman, San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- KARNOVSKY, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27:137A-138A.
- KIRKBRIDE Jr., J.H., GUNN, C.R. & RITCHIE, C.A. 1994. Seed and fruit phylogenies of Caesalpinioideae and Mimosoideae (Fabaceae) and their tribes. In *Advances in legume systematics 6: Structural Botany* (I.K. Ferguson & S.C. Tucker, eds.). Royal Botanic Gardens, Kew. p.117-140.
- LIMA, H.C. 1989. Tribo Dalbergieae (Leguminosae Papilionoideae) - morfologia dos frutos, sementes e plântulas e sua aplicação na sistemática. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 30:1-42.
- LIMA, M.P.M. 1985. Morfologia dos frutos e sementes dos gêneros da tribo Mimoseae (Leguminosae - Mimosoideae), aplicada à sistemática. *Rodriguésia* 37:53-78.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & McCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368-373.
- OLIVEIRA, D.M.T. 1997. Análise morfológica comparativa de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de Fabaceae ocorrentes no Estado de São Paulo. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- POLHILL, R.M. 1981a. Dalbergieae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew. v.1, p.233-242.
- POLHILL, R.M. 1981b. Papilionoideae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew. v.1, p.191-208.
- POLHILL, R.M. & VIDAL, J.E. 1981. Caesalpinieae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew. v.1, p.81-95.
- POLHILL, R.M., RAVEN, P.H. & STIRTON, C.H. 1981. Evolution and systematics of the Leguminosae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew. v.1, p.1-26.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1991. Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachychalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* 105:211-237.
- ZINDLER-FRANK, E. 1987. Calcium oxalate crystals in legumes. In *Advances in legume systematics 3* (C.H. Stirton, ed.). Royal Botanic Gardens, Kew. p.279-316.