

Aspectos da Fecundação e Embriogênese Inicial em *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)

Renata Pereira Fagundes¹, Samanta Feilstrecker¹
Jorge Ernesto de Araujo Mariath² e João Marcelo Santos de Oliveira³

Introdução

A anatomia de órgãos reprodutivos na família Anacardiaceae, principalmente do carpelo e pericarpo, tem se mostrado importante em considerações taxonômicas e sistemáticas [1,2,3], porém, poucos trabalhos realizados mostraram aspectos gerais da fecundação e do desenvolvimento embrionário no grupo [4]. Portanto, pouco é sabido sobre: a) como ocorre a fecundação no grupo, b) como se dá, de maneira ampla, o desenvolvimento embrionário, c) qual é a diversidade estrutural associada ao ciclo biológico, e d) qual é a relevância, ou aplicabilidade, da embriogênese em considerações taxonômicas e sistemáticas na referida família.

Assim, o objetivo do presente trabalho é apresentar aspectos gerais da fecundação e embriogênese inicial em *Schinus terebinthifolius* para propiciar a construção de conhecimento embriológico frente às necessidades apresentadas no contexto da família Anacardiaceae.

Material e métodos

Flores em antese e frutos jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi foram coletadas na Reserva Natural do Morro do Osso, no município de Porto Alegre, RS. O material recém coletado foi imediatamente armazenado em câmara fria e, posteriormente, seccionado sob microscópio estereoscópio Leica Zoom2000. O material foi fixado em uma solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 3,7%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, com pH 7,4 [5]. A desidratação foi realizada em série etílica. Como meio de inclusão, foi utilizado hidroxietilmetacrilato [6]. Secções foram realizadas em micrótomo de deslize Leitz 1400, na espessura de 5µm, e coradas com azul de toluidina O na concentração de 0,05%, em tampão benzoato de sódio, pH 4,4 [7]. A análise das lâminas histológicas foi realizada em microscópio Leica CME, Olympus BX41 (equipado com câmara fotográfica semi-automática) e Leica Dialux 20EB (equipado com câmara fotográfica manual), através das quais foram realizadas fotomicrografias em filme Kodak Gold ASA100.

Para descrição do desenvolvimento embrionário inicial foi adotada nomenclatura proposta por Johansen [8].

Resultados e Discussão

O rudimento seminal em *Schinus terebinthifolius* é anátropo e sua placentação é apical lateral [9] com obturador de origem funicular (Fig. 1A), e não secretor na maturidade [3]. Um único rudimento seminal ocorre no gineceu pseudo-unicarpelar e unilocular (Fig. 1A) como já observado em trabalhos já publicados [3,9,10].

Com relação ao processo de fecundação, foi observado que o tubo polínico em crescimento atravessa o tecido transmissor, que se estende do curto estilete até a região apical da cavidade locular, e invade a mesma. Na cavidade locular o tubo polínico penetra a rafe (Fig. 1B) e cresce através do feixe vascular até a região calazal, onde o mesmo se curva para penetrar a região nucelar passando, inicialmente, entre a base do tegumento interno e a hipóstase. Alguns tubos polínicos crescem através dos feixes vasculares, no mesofilo, da região ventral carpelar e, posteriormente, penetram no funículo através da região placentária, a partir do qual seguem o caminho descrito anteriormente (Fig. 1A,1C), atingindo o aparelho oosférico (Fig. 1D), onde ocorre a descarga dos gametas masculinos (Fig. 1E,1F). Processo similar, considerado como calazogamia, foi descrito para espécies de *Pistacia* [11,12,13] e para *Anacardium occidentale* [14]. Algumas hipóteses são apresentadas sobre a atração do tubo polínico, porém para espécies de *Schinus* é descrito que a atração do mesmo, na região do rudimento seminal, até o aparelho oosférico, seria coordenada pelo aparelho fibrilar, que ocorre junto ao ápice micropilar do ginófito, considerando-se, também, que nas espécies do referido gênero o obturador, de origem funicular, não possui estrutura secretora [4].

A penetração do tubo polínico, junto à região micropilar, no ginófito é evidente, sendo que o ápice do tubo polínico persiste durante a embriogênese inicial (Fig. 1H,1I). Aparentemente, a penetração do tubo polínico empurra, para dentro do ginófito, parte do aparelho fibrilar, a qual é facilmente percebido pela sua constituição péctica (Fig. 1I). A confirmação do evento poderá ser obtida através de microscopia eletrônica de transmissão. A observação do comportamento celular durante a dupla fecundação é difícil através da microscopia óptica, porém, aparentemente a fecundação ocorre 24 horas após a polinização, a semelhança do que é descrito para outras espécies [4].

É possível observar, em algumas amostras, os gametas masculinos muito próximos aos núcleos da oosfera e da

1. Acadêmica de Iniciação Científica – Centro Universitário Metodista – IPA.

2. Professor Titular do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9500, prédio 43423, sala 206, Porto Alegre, RS, CEP 91501-970. Tel.: (51) 3316-7655.

3. Professor - Centro Universitário Metodista – IPA. Rua Joaquim Pedro Salgado, 80, Rio Branco, prédio B, sala 305, Porto Alegre, RS, CEP 90420-060. Tel.: (51) 3316-1241 r: 1255.

célula média (Fig. 1E,1F). Após a fecundação o endosperma, do tipo nuclear, (Fig. 1G,1H) começa a se desenvolver, com núcleos e citoplasma se propagando em direção a região calazal, junto a periferia do ginófito, a partir da região micropilar. A celularização do endosperma foi observada, no presente trabalho, como ocorrendo inicialmente na região micropilar (Fig. 1I) e se estendendo até a região calazal. Padrão similar foi descrito para *Mangifera indica* [15] e *A. occidentale* [14].

O período exato em que ocorre a primeira divisão no zigoto, e o plano preferencial de tal divisão, não foi obtida no presente trabalho. Aparentemente, a primeira divisão ocorre dez a 15 dias após a fecundação. Uma descrição precisa para primeira divisão do zigoto, na família Anacardiaceae, foi descrita para *P. vera* [12], que ocorre dez a 12 semanas após a fecundação. Através da análise da organização celular dos pró-embriões obtidos, se percebe que a orientação da primeira parede celular foi transversal. Para as espécies estudadas na família Anacardiaceae, a mesma descrição foi apresentada [4].

As divisões posteriores, entretanto, seguiram dois padrões distintos. Em um dos padrões, foi observado que a célula apical (*ca*) se divide através de uma parede vertical (Fig. 1G). As derivadas da célula basal (*cb*) foram divididas através de uma parede transversal, originando, então, as chamadas células *m*, subjacentes às células *ca*, e a célula *ci* (Fig. 1G). Assim, o pró-embrião, com quatro células, possui estrutura de T invertido, semelhante ao que foi descrito para *Rhus mysurensis* [16], cujo gênero é considerado próximo ao gênero *Schinus* [1,2].

No outro padrão o pró-embrião foi formado através de divisões transversais das células *ca* e *cb*. A célula *ca* originou uma célula denominada *cc*, com posição terminal (calazal), e outra célula denominada *cd*, subjacente. A célula *cb* origina as células *m* e *ci*, com a célula *ci*, recém dividida, formando as células *n* e *n'*. O segundo padrão de desenvolvimento é idêntico ao descrito para *Schinus molle* [17].

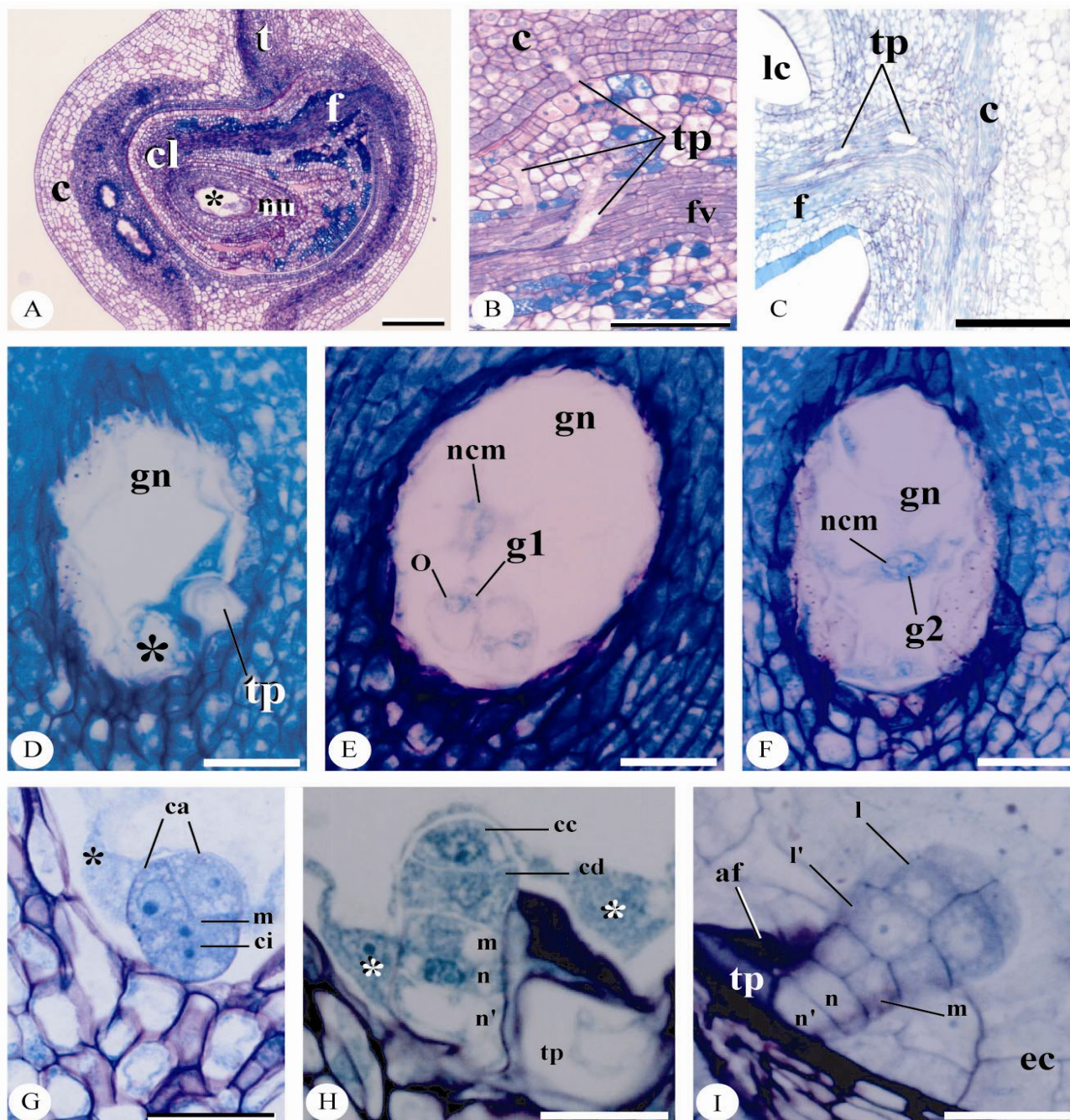
O pró-embrião octante obtido (Fig. 1I), pode ter sido originado através dos dois padrões descritos anteriormente. A partir do pró-embrião com quatro células (Fig. 1G), através de duas divisões, originando células *q* e, posteriormente, as células *q* originando as células *l* e *l'* (Fig. 1I). Uma divisão na célula *m* daria origem ao pró-embrião octante do tipo Onagráceo [8]. Caso o padrão inicial fosse através do pró-embrião com cinco células (Fig. 1H), o pró-embrião octante seria formado por divisões nas células *cc*, *cd* e *m*,

originando, assim, um pró-embrião tipo Chenopodiáceo [8].

Na família Anacardiaceae pouco é sabido a respeito do processo de desenvolvimento embrionário [4]. Em espécies de *Pistacia*, cuja embriogênese inicial foi mais explorada, são descritas variações no padrão embrionário inicial dentro de uma mesma espécie [11,12,13] semelhante ao descrito no presente trabalho.

Referências

- [1] WANNAN, B. S. & QUINN, C. J. 1990. Pericarp structure and generic affinities in the Anacardiaceae. *Botanical Journal of Linnean Society* 102:225-252.
- [2] WANNAN, B. S. & QUINN, C. J. 1991. Floral structure and evolution in the Anacardiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 107:349-385.
- [3] OLIVEIRA, J. M. S. 2005. Gênero *Schinus* L. (Anacardiaceae): Características embriológicas e a circunscrição das espécies ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Botânica, Tese de Doutorado.
- [4] JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B. & SRIVASTAVA, P. S. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- [5] McDOWELL, E. M. & TRUMP, B. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 100: 405-414.
- [6] GERRITS, P. O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerisation system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- [7] FEDER, N. & O'BRIEN, T. P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55:123-142.
- [8] JOHANSEN, D. A. 1950. *Plant Embryology*. Waltman, Massachusetts.
- [9] CARMELLO-GUERREIRO, S. M. & PAOLI, A. A. S. 1999. Morfologia e anatomia da semente de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em desenvolvimento. *Revista Brasileira de Botânica* 22:91-98.
- [10] BARKLEY, F. A. 1957. A study of *Schinus* L. *Lilloa* 28:1-110.
- [11] COPELAND, H. F. 1955. The reproductive structures of *Pistacia chinensis* (Anacardiaceae). *Phytomorphology* 5:440-449.
- [12] GRUNDWAG, M. & FAHN, A. 1969. The relation of embryology to the low seed set in *Pistacia vera* (Anacardiaceae). *Phytomorphology* 19:225-235.
- [13] GRUNDWAG, M. 1976. Embryology and fruit development in four species of *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *Botanical Journal of Linnean Society*, 73:355-370.
- [14] COPELAND, H. F. 1962. Observations on the reproductive structures of *Anacardium occidentale*. *Phytomorphology* 11:315-325.
- [15] SACHAR, R. C. & CHOPRA, R. N. 1957. A study of the endosperm and embryo in *Mangifera indica* L. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 27:219-228.
- [16] KELKAR, S. S. 1958. Embryology of *Rhus mysurensis* Heyne. *Journal of the Indian Botanical Society* 37:114-122.
- [17] COPELAND, H. F. 1959. The reproductive structures of *Schinus molle* (Anacardiaceae). *Madroño* 15:14-25.



Figuras 1A – 1I: Microscopia óptica de aspectos gerais e detalhes da anatomia do carpelo, do rudimento seminal e dos pró-embriões, através de seções longitudinais, de flores em antese e frutos jovens, em *Schinus terebinthifolius*. A. Aspecto geral do carpelo com um único rudimento seminal. Asterisco = ginófito. B - C. Detalhe da penetração do tubo polínico. B. através da rafe. C. através da região placentária. D. Liberação de gametas no ginófito. Asterisco = oosfera. E. Fecundação da oosfera. F. Fecundação da célula média. G a I. Pró-embriões. G. quatro células, duas células *ca*, uma célula *m* e uma célula *ci*. Asterisco = endosperma nuclear. H. Cinco células, uma célula apical *cc*, uma célula *cd*, uma célula *m*, uma célula *n* e uma célula *n'*. Asterisco = endosperma nuclear. I. Octante. Células *l* e *l'*, derivadas de células apicais (*ca*), células *m*, uma célula *n* e uma célula *n'*. Legenda geral: aparelho fibrilar = af, calaza = cl, endosperma celular = ec, parede carpelar = c, funículo = f, gameta masculino 1 = g1, gameta masculino 2 = g2, nucelo = nu, núcleo da célula média = ncm, oosfera = o, ginófito = gn, tecido transmissor = t, tubo polínico = tp. Fig 1A = 140µm, Figs. 1B-1C = 70µm, Figs. 1D-1I = 18µm.