

DESENVOLVIMENTO DE ESTÔMATOS EM FÓLHAS E  
CAULE DE *COBAEA SCANDENS*

Berta Lange de Morretes  
Nanuza Luiza de Menezes



## DESENVOLVIMENTO DE ESTÔMATOS EM FÓLHAS E CAULE DE *COBAEA SCANDENS*

BERTA LANGE DE MORRETES

NANUZA LUIZA DE MENEZES

Departamento de Botânica da Faculdade de Filosofia,  
Ciências e Letras da Universidade de São Paulo.

### Introdução e Agradecimentos

Poucos são os pesquisadores que até o momento têm realizado trabalhos do ponto de vista ontogenético no que diz respeito aos estômatos. Dentre êles, devemos lembrar especialmente Strasburger (12), Avery (1), Porterfield (7), Dehnel (3), e mais recentemente, Bünning e Biegert (2), Stebbins e Jain (9) Stebbins e Khushi (11) e Stebbins e Shah (10).

No presente trabalho, fizemos uma análise comparada do desenvolvimento de estômatos localizados na epiderme que reveste fôlhas e caules de *Cobaea*.

Desejamos consignar nossos agradecimentos ao Dr. Aylthon Brandão Joly e D. Maria José Guimarães, ambos do Departamento de Botânica da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, respectivamente pela determinação da espécie e pela cobertura de nossos desenhos a nankin; a D. Bertha Lange de Morretes pelo resumo em alemão.

### Material e Métodos

Escolhemos como material de estudo *Cobaea scandens* (Cav.), Polemoniaceae, por ser material abundante e de fácil manejo.

Em nossa pesquisa empregamos fôlhas e caules em diferenciação e completamente desenvolvidos.

As fôlhas de *Cobaea* são compostas, sendo o último par de folíolos transformado em gavinhas. Para podermos acompanhar as diferentes fases do desenvolvimento dos estômatos da fôlha, foram co-

lhidos os pares basais de folíolos, ao terem atingido 0,5 cm de comprimento e, sucessivamente, os folíolos com 0,7, 0,9 e finalmente aqueles de fôlhas em que a epiderme já estava em sua fase final de diferenciação.

A análise da epiderme que reveste o caule, era feita quando as fôlhas cotiledonares estavam distendidas e a plântula com 6,0 cm de comprimento. Além desta fase inicial, na qual encontramos vários passos de diferenciação, empregamos a epiderme de caules adultos para a compreensão da estrutura total.

As observações sempre foram feitas em material vivo e fixado.

Fôlhas e caules coletados, foram cortados sob água em fragmentos de aproximadamente 0,5 cm e a seguir levados à bomba de vácuo para retirada de ar. Após esta operação, transferimos as peças para o fixador, Craff III, Bouin ou FAA (fórmula de Maheshwari) de acordo com Sass (8). Maheshwari substituiu o álcool etílico a 95% por etílico a 50%.

Os melhores resultados foram obtidos com Craff III. O material foi incluído em parafina e a seguir cortado em série, paradermica e transversalmente, com 10 $\mu$  de espessura. Os cortes foram corados pelos processos de dupla coloração: Hematoxilina-Eosina, Cristal violeta-Eosina e Fast-green-Safranina, descritos por Johansen (5) e Sass (8). Trabalhamos também com a epiderme destacada, proveniente de fôlhas e caules vivos. O estudo foi complementado com a observação de fôlhas clarificadas segundo técnica descrita por Foster (4).

## Resultados

A epiderme que reveste o folíolo de 0,5 cm é constituída por células poliédricas, irregulares, de diferentes tamanhos.

Na Fig. 1, podemos observar dentre as células referidas, algumas muito menores, geralmente triangulares.

Na Fig. 2, esta situação é alterada no que diz respeito ao aspecto das células de pequena dimensão. A maioria das células é quadrangular e nesta fase, são visíveis estômatos em estágio mais avançado de desenvolvimento.

A Fig. 3, representa um setor da epiderme que reveste o fólo adulto. As células apresentam agora paredes onduladas. Os estômatos, na maioria dos casos, são circundados por quatro células, que em aspecto não divergem das demais células epidérmicas.

A Fig. 4, mostra um pormenor dos estômatos em vista frontal, já completamente desenvolvidos. Estes estômatos localizam-se um pouco acima do nível das demais células epidérmicas e o desnível é ocasionado pela disposição das células guarda.

A Fig. 5 representa o estágio em que as células da epiderme começam a perder suas paredes lisas, passando ao estágio ondulado. As Figs. 6-11 representam a situação encontrada no caule, tendo as figs. 6, 7 e 8 sido obtidas de caules provenientes de plântulas cujas folhas cotiledonares tinham acabado de se distender e 9, 10 e 11 respectivamente de um caule verde adulto.

Na Fig. 6, são visíveis células epidérmicas irregulares, de paredes não onduladas, entre as quais nota-se a presença de uma célula pequena, triangular.

Na Fig. 7, duas células pequenas que ainda conservam o contorno triangular, referido na Figura anterior.

Na Fig. 8, são visíveis uma célula triangular e um estômato na fase inicial de seu desenvolvimento. As células epidérmicas continuam apresentar paredes não onduladas.

As Figs. 9 e 10, representam estágios finais do desenvolvimento do estômato. Na Fig. 10 podemos observar a fenda estomática em sua fase inicial de formação.

A Fig. 11, corresponde a um estômato adulto, no qual as células guarda ficam localizadas em igual nível das demais células componentes do sistema de revestimento. O refôrço interno da célula estomática é irregular, apresentando-se chanfrado.

### *Discussão*

O fato de que ainda pouco foi feito no campo do desenvolvimento ontogenético dos estômatos já foi referido no início de nosso trabalho.

Coube a Strasburger (12) o mérito de ter iniciado em meados do século passado, esta linha de pesquisa. Descreveu o processo de formação da célula mãe do estômato, fazendo referência a migração

do núcleo em direção a um dos polos da célula, e após a divisão, o aparecimento de duas células, completamente desiguais em tamanho. Denominou a menor, célula mãe do estômato.

Em 1877, Tognini (13) afirmou que o desenvolvimento dos estômatos podia ser diferente nos diversos órgãos de uma só planta.

Em 1961, Stebbins e Khush (11) ao estudarem os complexos estomáticos em monocotiledôneas, verificaram que o desenvolvimento se processa de igual maneira nos diversos órgãos estudados, até mesmo em gêneros diferentes.

Em *Cobaea scandens* o processo de formação dos estômatos em folhas e caules decorre segundo as etapas seguintes: As células da protoderme que vão dar origem à célula mãe de estômatos, apresentam migração do núcleo em direção a um dos ângulos, seguida de condensação do protoplasma. Tal fenômeno foi evidenciado especialmente após o emprêgo dos métodos de coloração citados.

Não encontramos em *Cobaea* a situação descrita por Stebbins e Jain (1) no que diz respeito a condensação do protoplasma sempre no polo distal da célula, ou como Büning e Biegert (2) que indicam a condensação referida para o polo proximal da célula protodérmica. Tanto em folhas como em caules, verificamos que esta disposição pode ocorrer nos dois polos e, indiferentemente, em qualquer ângulo. Por ocasião da divisão, o fuso mitótico se orienta de tal maneira que uma das células, quando observada frontalmente, em corte paradérmico, apresenta contôrno triangular. Esta célula é a menor das resultantes da divisão. No caule, a célula de contôrno triangular sofre logo nova divisão e as células filhas, em conjunto guardam, geralmente, o contôrno inicial. Na folha, a célula mãe do estômato, antes de dividir-se, passa por um estágio de crescimento. Por esta razão, só raras vêzes encontramos células guarda apresentando contôrno inicial triangular. Tanto no caule como na folha, o processo da diferenciação das células mãe não é obrigatoriamente concomitante. Na mesma área de estudo, vários estágios podem ser encontrados, lado a lado.

Células epidérmicas de paredes onduladas, ocorrem exclusivamente nas folhas. A ondulação da parede, surge precocemente, obedecendo a seqüência base-ápice, e freqüentes vêzes, tem início junto a nervuras de maior porte. Os estômatos completamente desen-

volvidos, são de acôrdo com Metcalfe e Chalk (6) do tipo anomocítico, ficando distribuídos difusamente na fôlha e no caule. No caule, as fendas estomatares se dispõe paralelamente ao maior eixo, do órgão e nas fôlhas, em diferentes posições. As paredes celulares de todo o complexo não se apresentam muito espessadas. A região reforçada, correspondente à fenda estomatar é nitidamente chanfrada nos estômatos do caule e praticamente lisa nos da fôlha.

### Resumo

O desenvolvimento dos estômatos de *Cobaea scandens* (Cav.) em caule e fôlha, pode ser dividido nos seguintes estágios:

- a) migração do núcleo em direção a um dos polos da célula protodérmica;
- b) concentração dos componentes protoplasmáticos neste polo;
- c) os polos podem ser vizinhos (distal e proximal);
- d) orientação do fuso de tal modo a possibilitar a formação de uma célula triangular, a célula mãe das células guarda;
- e) na fôlha, a célula mãe geralmente passa por um estágio de crescimento antes da divisão seguinte, responsável pela formação das células estomatares. No caule, geralmente este período de crescimento não ocorre e a divisão da célula mãe da origem a duas células diferentes em formato;
- f) na mesma área tanto no caule como na fôlha, podem ocorrer diferentes fases do desenvolvimento;
- g) células epidérmicas de paredes onduladas ocorrem apenas nas fôlhas. A ondulação das paredes surge em estágios precoces, obedecendo à seqüência base-ápice;
- h) os estômatos do caule, apresentam o refôrço da fenda estomatar nitidamente chanfrado, enquanto que, na fôlha este refôrço geralmente é liso.

### Zusammenfassung

Die Entwicklung der Spaltöffnungen von *Cobaea scandens* (Cav.) im Stiel und Blatt kann in folgende Stadien eingeteilt werden

- a) Migration des Kernes in Richtung zu einem der protodermischen Zellpole.

- b) Konzentrierung der protoplasmatischen Komponenten in diesem Pol.
- c) Die Pole können Seite an Seite liegen (distal und proximal).
- d) Orientierung der Spindel dermassen, dass die Bildung einer dreieckigen Zelle ermöglicht wird, nämlich die Mutterzelle der Spaltöffnungszellen.
- e) Im Blatt, geht die Spaltöffnungsmutterzelle durch ein Wachstumstadium, bevor sie sich teilt. Im Stengel kommt dieses Wachstumstadium nicht vor und die Teilung der Spaltöffnungsmutterzelle ergibt zwei in der Form verschiedene Zellen.
- f) Sowohl am Stiel wie am Blatt können auf derselben Fläche, Seite an Seite, verschiedene Entwicklungsfasen erscheinen.
- g) Epidermiszellen mit ondulierten Wänden kommen nur am Blatt vor. Die Ondulierung der Wände erscheint frühzeitig in der Entwicklung des Blattes und vollzieht sich in der Sequenz Basis-Spitze.
- h) Die Spaltöffnungen des Stieles zeigen die Verdickung der Spalte deutlich gerillt, während am Blatt diese Verdickung gewöhnlich glatt ist.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — Avery, G. S. Jr. 1933. Structure and development of the tobacco leaf. Amer. Jour. Bot. 20: 565-592.
- 2 — Bünning, E. und F. Biegert. 1952. Die Bildung der Spaltöffnungsinitialen bei *Allium cepa*. Zeit. Bot. 41: 17-39.
- 3 — Dehnel, G. S. 1957. Ontogenetic studies of stomata. Doctoral diss. University of California — Berkeley.
- 4 — Foster, A. S. 1953. Techniques for study of venation patterns in the leaves of angiosperms. Proc. 7th. Cong. (Stockholm 1950) p. 586-587
- 5 — Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York.
- 6 — Metcalfe, C. R. and L. Chalk. 1950. Anatomy of the dicotyledons. 2 vols. Oxford, Clarendon Press.
- 7 — Porterfield, W. M. 1937. Histogenesis in the bamboo, with special references to the epidermis. Bull. Torrey Bot. Club. 64: 421-432.
- 8 — Sass, J. S. 1958. Botanical microtechnique. Iowa State College Press, Ames.

- 9 — Stebbins, C. L. and S. K. Jain. 1960. Developmental studies of cell differentiation in the epidermis of Monocotyledons. I. *Developmental Biol.* 2: 409-426.
- 10 — Stebbins, C. L. and S. S. Shah. 1960. Developmental studies of cell differentiation in the epidermis of Monocotyledons. II. *Developmental Biol.* 2: 477-500.
- 11 — Stebbins, C. L. and G. S. Khush. 1961. Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on the phylogeny. *Amer. Jour. Bot.* 48: 51-59.
- 12 — Strasburger, E. 1866. Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Spaltöffnungen. *Jahrb. Wiss. Bot.* 5: 297-342.
- 13 — Tognini, F. 1897. Contribuzione allo studio della organogenia comparata degli stomi. In Stebbins, C. L. and G. S. Khush. 1961 *Amer. Jour. Bot.* 48: 51-59.

## Prancha I

Desenvolvimento do estômato em fôlha de *Cobaea scandens* (Cav.)

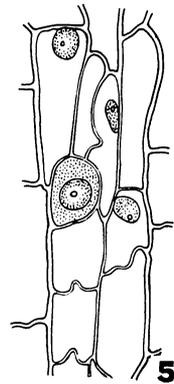
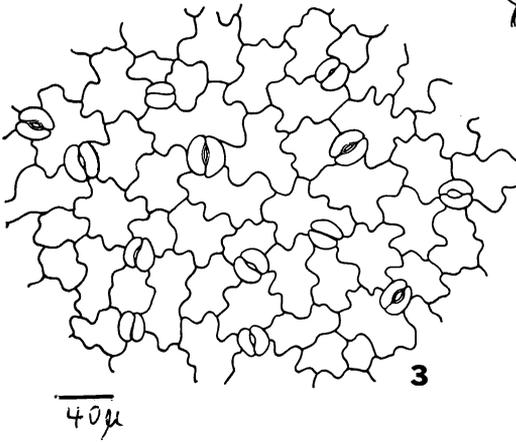
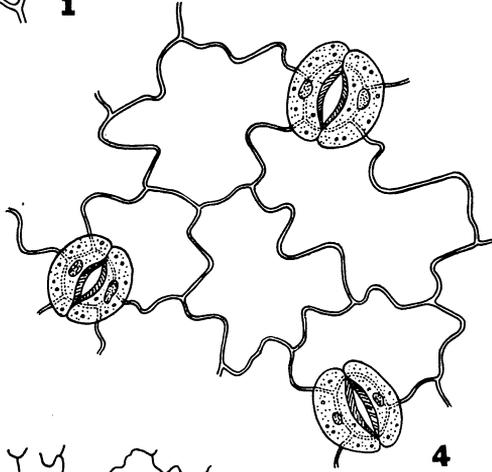
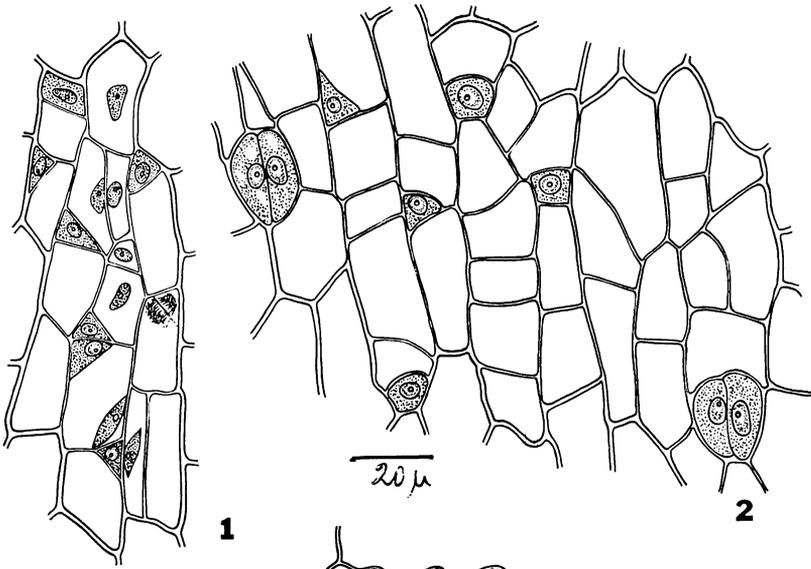
Fig. 1 — Células da protoderme, que após migração do núcleo e condensação do protoplasma em um dos polos celulares, sofreram divisão, originando células filhas desiguais em tamanho e formato. As células pequenas, triangulares, são células mãe de estômatos. Na mesma figura ainda é visível uma célula em divisão.

Fig. 2 — Estágio de crescimento das células mãe de estômatos. O aspecto tipicamente triangular descrito na figura anterior, desaparece e no mesmo campo, são encontrados diferentes estágios do desenvolvimento de estômatos.

Fig. 3 — Epiderme de um folíolo desenvolvido. Lado a lado, encontramos estômatos adultos e alguns em fase final de formação.

Fig. 4 — Epiderme apresentando estômatos completamente desenvolvidos. É possível observar nesta figura, que as células guarda ficam situadas acima do nível das células epidérmicas que as circundam.

Fig. 5 — Folíolo com 0,5 cm de comprimento. Algumas células da epiderme apresentam estágio inicial de ondulação das paredes. O corte foi obtido em região próxima a nervura central do folíolo.



## Prancha II

Desenvolvimento do estômato em fôlha de *Cobaea scandens* (Cav.)

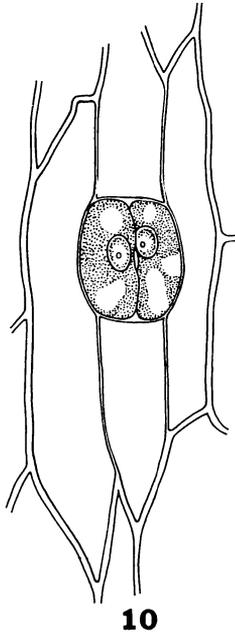
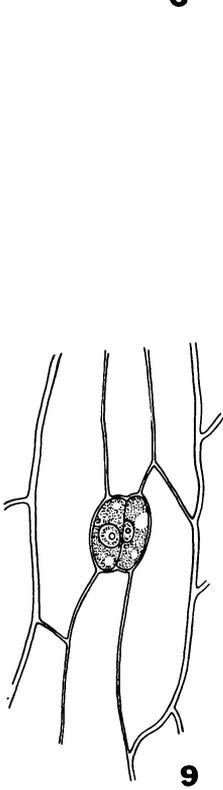
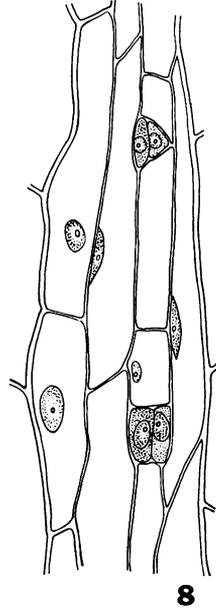
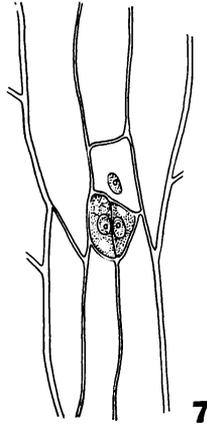
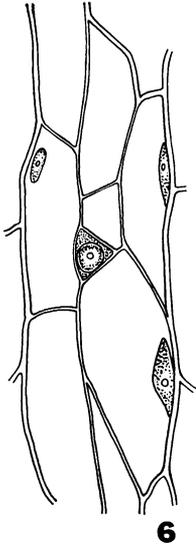
Fig. 6 — Corte paradérmico do caule de uma plântula de 6,0 cm de altura (acima do solo). Na figura é visível uma célula de contôrno triangular, resultante de uma divisão desigual.

Fig. 7 — Na figura, podemos observar duas células guarda, recém formadas. Nota-se ainda o contôrno triangular primitivo, típico da célula mãe do estômato.

Fig. 8 — Na figura, são visíveis dois estágios do desenvolvimento de estômatos. Um, corresponde ao estágio descrito na Fig. 7 e o outro, à fase em que as células guarda já estão em crescimento.

Figs. 9 e 10 — Fases do desenvolvimento do estômato. Na figura 10, já é visível a formação da fenda estomatar.

Fig. 11 — A figura representa estômatos completamente desenvolvidos. As células guarda ficam situadas ao mesmo nível das demais células componentes da epiderme, e estas, não apresentam paredes onduladas. O refôrço da fenda é irregular, apresentando o bordo serrilhado.



20  $\mu$

