

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

BASE CELULAR DA ORIGEM E DESENVOLVIMENTO DO ENDOSPERMA

Caroline Jácome Costa¹; Paulo Dejalma Zimmer²; Francisco Amaral Villela³

¹ Eng. Agr., Dr., Pesquisadora EMBRAPA CERRADOS, Rodovia, BR-020, Km 18, C.P. 08223, CEP 73310-970, Planaltina, DF. e-mail: caroline.costa@cpac.embrapa.br; ² Eng. Agr., Dr., Prof. Adjunto FAEM/UFPEL, Pelotas, RS; ³ Eng. Agrícola, Dr., Prof. Adjunto FAEM/UFPEL, Pelotas, RS.

RESUMO: O processo de desenvolvimento do endosperma do tipo nuclear, predominante na maioria das espécies vegetais de interesse econômico, é revisado, enfatizando-se particularidades referentes à regulação do ciclo celular, citocinese e funções do citoesqueleto ao longo do desenvolvimento do tecido. A revisão pretende proporcionar uma visão global do processo de desenvolvimento do endosperma, desde a dupla fertilização até a diferenciação das células que compõem o tecido.

Palavras-chave: celularização, cenócito, diferenciação celular, endosperma nuclear, sementes.

CELLULAR BASE OF THE ORIGIN AND DEVELOPMENT OF ENDOSPERM

ABSTRACT: The nuclear endosperm development, predominant in most of the vegetable species of economical interest, is revised, being emphasized particularities regarding the cell cycle regulation, cytokinesis and cytoskeleton functions along the development of the tissue. The revision intends to provide a global vision of the endosperm development, from the double fertilization to the cell differentiation.

Keywords: cellularization, coenocyte, cell differentiation, nuclear endosperm, seeds.

INTRODUÇÃO

A despeito de sua importância ecológica e econômica, seja como tecido fundamental para o sucesso do estabelecimento das angiospermas na superfície terrestre, seja como fonte de alimento e matéria-prima para a indústria, o desenvolvimento do endosperma ainda é objeto de estudo e investigação científica, estando, ainda, incompletamente elucidado.

Avanços nas técnicas de microscopia eletrônica, tomografia computa-

dorizada, imunohistoquímica e moleculares têm permitido, todavia, ganhos substanciais na compreensão dos mecanismos celulares, genéticos e fisiológicos subjacentes ao desenvolvimento do endosperma.

A presente revisão não pretende esgotar o assunto, dada a amplitude do tema e a necessidade de abordagens cada vez mais multidisciplinares. Todavia, pretende-se reunir o conhecimento até agora alcançado em torno do assunto, bem como reavivar o interesse pelo tema, estimulando revisões complementares e trabalhos de pesquisa na área.

IMPORTÂNCIA DO ENDOSPERMA

O endosperma constitui um tecido de reserva, encontrado nas angiospermas, com a função de suprir os nutrientes essenciais ao embrião em desenvolvimento e, em alguns casos, às plântulas. Isso porque, em algumas espécies, ele ocorre apenas transitariamente durante a formação e desenvolvimento das sementes, sendo totalmente absorvido durante o desenvolvimento embrionário. Em outros casos, ele persiste total ou parcialmente após o atingimento da maturidade fisiológica das sementes, sendo essencial durante a germinação e a fase inicial do desenvolvimento das plântulas. Nas sementes desprovidas de endosperma, geralmente o embrião ocupa o maior volume da semente, armazenando reservas em regiões específicas, especialmente nos cotilédones, como nas famílias Fabaceae, Cucurbitaceae e Asteraceae (ESAU, 1974; FAHN, 1985).

Em algumas famílias, o desenvolvimento do endosperma é interrompido no início de sua formação, resultando no desenvolvimento de sementes sem esse tecido de reserva nutritiva. Isso já foi observado em espécies das famílias Orchidaceae, Podostemaceae e Trapaceae (MAHESHWARI, 1950; VIJAYARAGHAVAN; PRABHAKAR, 1984). Nas Podostemaceae, um pseudo-saco embrionário desenvolve-se no interior dos tecidos nucelares e parece atuar como um endosperma alternativo ao embrião em desenvolvimento (MAHESHWARI, 1950).

De toda forma, a despeito da divergência nos possíveis destinos que o endosperma possa seguir entre as várias espécies, seu desenvolvimento inicial revela mecanismos conservados e muito similares entre as diversas famílias e espécies (BECRAFT, 2001).

Além da função como reservatório de nutrientes, acredita-se que o endosperma desempenhe papel crítico para o desenvolvimento do embrião, afetando diferentes etapas da embriogênese. Por outro lado, embora haja evidências de que também o desenvolvimento do endosperma seja afetado pela sua interação com o embrião em desenvolvimento, a magnitude dessa influência parece ser de menor escala. A descoberta de mutantes capazes de produzir endosperma na ausência de embriões viáveis e mesmo a simulação de todo o processo de desenvolvimento do endosperma in vitro reforçam essa teoria (KRANZ et al., 1998; BERGER, 1999).

Para Aqüila (2004), além de exercer funções relacionadas à nutrição e à regulação do desenvolvimento embrionário, o endosperma também exerce papel fundamental na manutenção de um gradiente de pressão osmótica que previne a germinação precoce da semente em desenvolvimento.

Embora já tenha sido possível simular as primeiras etapas do desenvolvimento do endosperma de sementes de milho (*Zea mays* L.) in vitro (KRANZ et al., 1998), existem trabalhos que demonstram a interdependência entre o desenvolvimento de tecidos de origem exclusivamente materna, como os integumentos, e tecidos de origem materna e paterna, como o endosperma e o embrião (GARCIA et al., 2005). Assim, por exemplo, em *Arabidopsis thaliana*, o desenvolvimento das sementes pode ser subdividido em duas fases: a primeira delas é caracterizada por intensa proliferação e crescimento das células que compõem o endosperma, resultando em grande aumento de tamanho da semente em formação. Na segunda fase, ocorre o crescimento do embrião, às expensas do endosperma formado (BOISNARD-LORIG et al., 2001; GARCIA et al., 2005). A interação entre as duas fases define o tamanho e a forma das sementes.

ORIGEM DO ENDOSPERMA

Sabe-se que a germinação dos grãos de pólen que chegam ao estigma de flores receptivas leva ao desenvolvimento do tubo polínico, que carrega em seu interior os núcleos espermáticos e que avança através do estilete até alcançar o saco embrionário.

Na maior parte das espécies, o tubo polínico penetra no saco embrionário através da micrópila, processo que se denomina porogamia. Em out-

ras, entretanto, a penetração do tubo polínico dá-se pelo pólo chalazal do saco embrionário, processo denominado chalazogamia, que ocorre, por exemplo, no gênero *Casuarina* e em espécies do gênero *Pistacia* (FAHN, 1985).

Ao penetrar no saco embrionário, a extremidade do tubo polínico bifurca-se e ocorre a liberação das duas células espermáticas que seguem destinos diferentes: uma funde-se à oosfera, originando o zigoto ou célula-ovo e a outra funde-se aos núcleos polares, originando o núcleo primário do endosperma. Esse processo é conhecido como dupla fertilização. O produto do desenvolvimento do zigoto originará o embrião e o desenvolvimento do núcleo primário do endosperma, através de divisões sucessivas, resultará na formação do endosperma propriamente dito.

Em geral, no início do desenvolvimento, o endosperma é um tecido triplóide, resultante da fusão de dois núcleos polares haplóides provenientes da célula central do saco embrionário e um núcleo espermático (haplóide) proveniente do grão de pólen. Todavia, dependendo do processo que originou o saco embrionário (megagametogênese), o endosperma poderá ser diplóide (como em *Butomopsis*), pentaplóide (como em *Fritillaria*) ou até mesmo assumir elevados graus de ploidia. Ao longo de sua formação, os núcleos do endosperma aumentam de tamanho, originando núcleos hipertróficos altamente poliplóides, de modo que ao final do desenvolvimento, o endosperma é um tecido mixoplóide (VIJAYARAGHAVAN; PRABHAKAR, 1984). De acordo com Cocucci e Mariath (2004), a poliploidia e a politenia são estratégias comuns a muitos seres vivos para poderem produzir, em curto espaço de tempo, grandes quantidades de determinados compostos. Essa teoria é condizente com a função nutritiva desempenhada pelo endosperma.

Há evidências de que a manutenção de uma contribuição balanceada entre as constituições genéticas materna e paterna, sendo a proporção de 2:1 a predominante, assegura o desenvolvimento sincronizado entre o endosperma e o embrião (BECRAFT, 2001; BERGER, 2003). Em milho, desvios dessa proporção resultam na incapacidade de desenvolvimento do endosperma e no colapso das sementes (LIN, 1984).

a - Origem evolutiva do endosperma

A origem evolutiva do endosperma e do processo responsável pela sua

formação - a dupla fertilização - ainda é tema de ampla discussão no cenário científico (FRIEDMAN, 1994; 1998; BERGER, 2003; FRIEDMAN; WILLIAMS, 2004).

Duas teorias principais buscam explicar a possível origem evolutiva do endosperma: na primeira, acredita-se que, em espécies ancestrais das angiospermas atuais, a dupla fertilização tenha produzido dois embriões, sendo que um deles especializou-se no armazenamento de reservas nutritivas, tendo evoluído para o endosperma atual. Isso implicaria na existência de uma célula central haplóide presente no saco embrionário das espécies ancestrais que, após a fertilização com um dos núcleos espermáticos do grão de pólen, originaria um endosperma diplóide. Estudos conduzidos em plantas do gênero *Ephedra*, considerada por alguns pesquisadores a ponte de ligação evolutiva entre gimnospermas e angiospermas, levaram à descoberta de que a dupla fertilização, nessas espécies, origina dois embriões (FRIEDMAN, 1994), o que reforça essa teoria.

A outra teoria para a origem evolutiva do endosperma estabelece a possibilidade de que tenha ocorrido o desenvolvimento paralelo, porém sincronizado, do embrião e de células do próprio saco embrionário, que se especializariam no acúmulo de reservas nutritivas para o embrião em desenvolvimento. A integração entre o desenvolvimento do saco embrionário e do embrião seria garantida pelo mecanismo de dupla fertilização, assegurando que as reservas só seriam sintetizadas e armazenadas caso ocorresse a fecundação. Essa teoria encontra várias evidências que a suportam, principalmente a similaridade entre o desenvolvimento do endosperma de grande parte das angiospermas e do gametófito de espécies não produtoras de sementes e os mecanismos de silenciamento de genes de origem paterna que ocorrem em várias etapas do desenvolvimento do endosperma, ressaltando a preponderância materna no controle do desenvolvimento do tecido (BERGER, 2003). Além disso, estudos filogenéticos suportam a hipótese de que o endosperma tenha evoluído de um tecido essencialmente materno (originário do desenvolvimento de células do próprio saco embrionário) para um tecido de origem biparental, formado a partir da fusão de um núcleo materno, proveniente do saco embrionário, e outro paterno, proveniente do grão de pólen (FRIEDMAN; WILLIAMS, 2004).

b - Tipos de endosperma

À divisão do núcleo primário do endosperma, seguem-se sucessivas divisões dos núcleos-filhos, até que o endosperma propriamente dito esteja completamente formado. Baseado no padrão de divisões nucleares e celulares, três tipos de endosperma podem ser distinguidos:

– Endosperma nuclear - nesse tipo de endosperma, o processo de divisão do núcleo primário do endosperma e dos núcleos-filhos não está acoplado à formação de paredes celulares que individualizem cada um dos núcleos formados, isto é, a cariocinese não é acompanhada da imediata citocinese. Os núcleos provenientes das várias divisões nucleares livres adotam posição periférica no saco embrionário, resultando na formação de um grande vacúolo central no mesmo (VIJAYARAGHAVAN; PRABHAKAR, 1984; FAHN, 1985). O número de divisões nucleares livres, antes que ocorra a formação das primeiras paredes celulares, varia grandemente entre as espécies. Dessa forma, várias centenas de núcleos podem ser formados, como nos gêneros *Primula*, *Malva*, *Jussieua*, *Cochlospermum*, *Brexia*, *Mangifera*, *Juglans*, *Malus* e *Citrus*; em outros casos, oito a dezesseis núcleos são formados, como em *Asclepias*, *Rafflesia*, *Leiphaimos*, *Cotylanthera*, *Calotropis*, *Xeranthemum* e *Crepis* e, no caso do gênero *Coffea*, as primeiras paredes se formam quando o endosperma em formação encontra-se no estágio de quatro núcleos livres (MAHESHWARI, 1950). Esse é o tipo de endosperma mais comumente encontrado, já tendo sido registrado em mais de 160 famílias, incluindo mono e dicotiledôneas (MAUSETH, 1988).

– Endosperma celular – nesse caso, as divisões nucleares estão sincronizadas com a formação de paredes celulares. A primeira divisão nuclear geralmente é acompanhada pela formação de uma parede celular horizontal, que divide o saco embrionário em duas regiões: uma região chalazal e outra micropilar, aproximadamente de mesmo tamanho. Todavia, a formação dessa parede pode ser vertical ou diagonal e as paredes celulares formadas posteriormente podem ou não ser paralelas à primeira, de modo que, ao final do processo de formação das várias células, o endosperma resultante pode ser formado por cé-

lulas orientadas segundo várias direções (FAHN, 1985). Além disso, uma ou mais células provenientes dos pólos chalazal, micropilar ou ambos podem se especializar formando haustórios. Os haustórios provavelmente têm a função de transportar nutrientes dos tecidos da planta-mãe para o endosperma em desenvolvimento. Em algumas espécies, ocorre a formação de haustórios secundários originados a partir de células nucelares adjacentes às células endospermicas localizadas nas proximidades da micrópila e/ou da chalaza.

– Endosperma helobial – refere-se a um tipo de endosperma intermediário aos dois anteriormente descritos. Ocorre em diferentes gêneros de angiospermas, como *Asphodelus*, *Muscari*, *Ornithogalum*, *Saxifraga* e *Echium*. Nesse tipo de endosperma, a primeira divisão do núcleo primário do endosperma resulta na formação de duas câmaras: a maior, ocupando a posição micropilar e a outra, a posição chalazal. Em geral, várias divisões nucleares livres ocorrem na câmara micropilar, que segue, aproximadamente, o padrão de desenvolvimento do endosperma do tipo nuclear. Por outro lado, na câmara chalazal, o núcleo permanece sem sofrer divisões ou apenas há a ocorrência de uma ou duas divisões (VIJAYARAGHAVAN; PRABHAKAR, 1984; FAHN, 1985). O endosperma helobial é muito raro e parece ocorrer apenas em monocotiledôneas (AQÜILA, 2004).

DESENVOLVIMENTO DO ENDOSPERMA

O endosperma do tipo nuclear

Embora exista mais de um tipo de endosperma quanto ao desenvolvimento, serão abordadas apenas as particularidades referentes ao desenvolvimento do endosperma do tipo nuclear, dada a sua predominância na maioria das espécies de interesse econômico.

A fase cenocítica

No processo usual de formação da parede celular que se segue à divisão nuclear nas células vegetais, uma complexa rede formada pela associa-

ção de microtúbulos, filamentos de actina, vesículas derivadas do complexo de Golgi e do retículo endoplasmático (constituindo os fragmoplastos) atuam na individualização de cada célula resultante do processo mitótico (STAEHELIN; HEPLER, 1996; HEESE et al., 1998; SYLVESTER, 2000; OLSEN, 2001; OTEGUI et al., 2001). As vesículas derivadas do complexo de Golgi, transportando precursores da parede celular em formação, associam-se aos microtúbulos e acumulam-se na região previamente delimitada pela placa metafásica, originando a nova parede celular. Nesse processo, a divisão nuclear e a citocinese são etapas coordenadas e os microtúbulos que farão parte dos fragmoplastos originam-se a partir de remanescentes do próprio fuso mitótico localizado entre os dois núcleos-filhos, imediatamente após a mitose.

Todavia, em sistemas que não apresentam o mecanismo convencional de citocinese, esses dois eventos não estão necessariamente acoplados e a divisão nuclear ocorre sem que haja a deposição imediata da parede celular. Isso leva ao desenvolvimento de uma estrutura multinucleada denominada cenócito, que demarca a fase inicial do desenvolvimento do endosperma do tipo nuclear, prevalente em várias espécies de interesse econômico, incluindo os cereais e muitas dicotiledôneas, como soja (*Glycine max* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e *Arabidopsis*.

Além das evidências da ocorrência desse processo no desenvolvimento inicial do endosperma, a formação de estruturas multinucleadas, nas quais parece haver o desacoplamento temporal entre o processo de divisão nuclear e a deposição da parede celular, também parece estar presente em eventos importantes para a reprodução sexual das plantas como na microsporogênese e megagametogênese.

No caso do desenvolvimento do endosperma, acredita-se que a função dos fragmoplastos é, de alguma forma, suprimida, uma vez que há evidências de que eles são formados. Em trigo (*Triticum aestivum* L.), existem registros de que uma placa celular transitória é formada, mas, o processo de desenvolvimento dessa placa em uma parede celular completa é interrompido, evidenciando o funcionamento parcial dos fragmoplastos (TIAN et al., 1998). Assim, a regulação de etapas posteriores à organização dos fragmoplastos deve orientar a formação do cenócito no processo inicial de desenvolvimento do endosperma do tipo nuclear.

As divisões nucleares livres e a migração ordenada dos núcleos

As várias divisões nucleares que ocorrem no estágio inicial de desenvolvimento do endosperma do tipo nuclear não ocorrem aleatoriamente, mas conforme planos pré-definidos de divisões nucleares. Nesse processo, núcleos-filhos migram para domínios (ou zonas) específicas no interior do citoplasma cenocítico, resultando na formação de uma camada multinuclear periférica que envolve toda a superfície da célula central que originou o endosperma. Os núcleos-filhos organizam-se segundo um padrão proximal-distal, que se estende do pólo micropilar ao pólo chalazal. Esse posicionamento nuclear parece ter papel fundamental na futura diferenciação de células especializadas que irão formar o endosperma maduro (OLSEN, 2001).

Em milho, as primeiras três divisões mitóticas do núcleo primário do endosperma ocorrem segundo planos pré-definidos, resultando em oito núcleos posicionados na posição basal do endosperma em desenvolvimento. A partir de então, novas divisões ocorrem e os núcleos migram para regiões específicas na periferia da célula central, chegando a ocupar 1/8 da superfície do cenócito (COE, 1978; McCLINTOCK, 1984). Podem ser formados de 256 a 512 núcleos ao final da fase cenocítica (WALBOT, 1994).

Em Arabidopsis, o endosperma, ao final do estágio cenocítico, encontra-se diferenciado em três regiões: a região que circunda o embrião, o endosperma periférico, ocupando a região central e o endosperma chalazal (BROWN et al., 1999; SORENSEN et al., 2002). Ao final da fase cenocítica, há ao redor de 200 núcleos formados (BOISNARD-LORIG et al., 2001).

O processo de celularização do endosperma

O endosperma do tipo nuclear pode permanecer cenocítico até o final de seu desenvolvimento, porém, o mais comum é ocorrer a celularização, isto é, a individualização de cada núcleo em uma célula. Esse processo, por sua vez, pode ocorrer em todo o tecido, restringir-se à periferia ou ocorrer apenas na região micropilar (AQÜILA, 2004). Em Arabidopsis, o processo de celularização progride da região que circunda o embrião para a região chalazal em movimento ondular (MANSFIELD; BRIARTY, 1990; BROWN et al., 1999), havendo casos em que não se observa a celularização da região chalazal, que

origina um cisto (OLSEN, 2004).

Após o processo de sucessivas divisões nucleares livres e a migração ordenada dos núcleos, a atividade mitótica cessa, sendo retomada somente alguns dias depois. Em sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.) em desenvolvimento, as divisões cessam por volta dos três dias após a polinização e são retomadas, aproximadamente, dois dias depois (OLSEN, 2004). Durante esse período de aparente repouso, ocorrem profundas alterações celulares que preparam o endosperma em desenvolvimento para uma nova fase: a fase celular, na qual haverá a formação de um tecido propriamente dito, com a individualização de cada um dos núcleos resultantes das sucessivas divisões da fase anterior (OLSEN, 2001). A principal alteração ao nível celular, nessa etapa, é o rearranjo dos microtúbulos que compõem o citoesqueleto.

A participação de fragmoplastos especiais

A formação das primeiras paredes celulares no processo de celularização do endosperma tem sido alvo de intensas controvérsias e encontra-se sob investigação até o presente. De acordo com uma das teorias, a deposição das primeiras paredes celulares na camada periférica do endosperma em desenvolvimento ocorreria sem a intervenção de fragmoplastos típicos, sendo totalmente desacoplada do processo de divisão nuclear (OLSEN et al., 1999; BERGER, 1999). Nesse caso, as paredes celulares seriam resultantes de prolongamentos localizados da parede celular do próprio cenócito. Entretanto, estudos realizados em endosperma de trigo, feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e *Arabidopsis*, contradizem esse modelo de deposição da parede celular e destacam a participação de fragmoplastos especiais (mini-fragmoplastos ou fragmoplastos adventícios) e placas celulares típicas, apresentando muitos aspectos coincidentes com o padrão convencional de deposição da parede celular que ocorre em células meristemáticas.

Em células meristemáticas, os fragmoplastos organizam-se a partir de microtúbulos remanescentes do fuso mitótico. Estudos sobre o endosperma em desenvolvimento de sementes de *Arabidopsis* mostram, todavia, não haver a presença de microtúbulos residuais provenientes do fuso mitótico após o encerramento dos ciclos de divisões nucleares livres, previamente à formação das paredes celulares (BROWN et al., 1999). Ao invés disso, o endosperma

passa a ser organizado em domínios núcleo-citoplasmáticos que delimitam cada núcleo, através da formação de feixes de microtúbulos provenientes de pontos na superfície da membrana nuclear (OTEGUI; STAEHELIN, 2000; NGUYEN et al., 2001; OLSEN, 2001; OTEGUI et al., 2001). A partir da sobreposição de feixes de microtúbulos opostos, localizados entre núcleos adjacentes, ocorre, então, a formação dos mini-fragmoplastos envolvidos na formação da parede celular. Embora os estudos mais detalhados dos mecanismos específicos envolvidos nesse processo tenham sido desenvolvidos em *Arabidopsis thaliana*, esse padrão diferenciado de formação da parede celular já foi registrado em grande número de espécies, incluindo trigo, cevada, arroz (*Oryza sativa* L.), feijão, nabo (*Raphanus sativus* L.), *Ranunculus sceleratus* e *Myrsine laetevirens* (OLSEN, 2001).

Dos fragmoplastos à formação da parede celular

Vesículas derivadas do complexo de Golgi, transportadas provavelmente por proteínas específicas presentes nos microtúbulos e organizadas na complexa rede que forma os mini-fragmoplastos, fundem-se umas às outras formando um complexo sistema de membranas que gradualmente se modificam em estrutura e composição para originar a parede celular (OTEGUI; STAEHELIN, 2000; OTEGUI et al., 2001).

Inicialmente estabilizada pela deposição de uma densa camada filamentosa de membranas, que exclui a interferência física de organelas externas no processo de desenvolvimento da placa celular, a extensa rede de membranas vai progressivamente se modificando em composição até ser capaz de sintetizar os próprios polissacarídeos que, por si só, assumem a função de estabilizarem fisicamente a placa celular em formação. Dessa forma, a composição química inicial da placa celular em formação é rica em xiloglucanos e pectinas, produzidos por enzimas localizadas, provavelmente, no complexo de Golgi. Na medida em que a placa celular amadurece, concentrações crescentes de calose e celulose são depositadas, através da atuação de enzimas localizadas nas próprias membranas que compõem a placa celular (HONG et al., 2001a, b; VERMA, 2001).

A progressiva modificação estrutural do sistema de membranas na placa celular em formação é auxiliada pela atuação de vesículas recobertas

por clatrininas, responsáveis pela remoção de proteínas e lipídios em excesso, de modo a processarem o devido refinamento da parede celular final (OTEGUI; STAEHELIN, 2000).

Diferenciação celular

Conforme a simetria, o endosperma pode ser caracterizado segundo um padrão longitudinal e outro radial de diferenciação celular (BERGER, 2003).

O padrão longitudinal, que se estende do pólo micropilar ao chalazal, compreende três regiões distintas: uma próxima ao pólo micropilar, envolvendo o embrião; outra central, representando o maior volume do endosperma, sendo formada, nos cereais, por células especializadas no armazenamento de amido e proteínas e uma terceira, localizada próximo ao pólo chalazal, caracterizada pela presença de células especializadas no transporte de substâncias entre a planta-mãe e o endosperma em desenvolvimento, dada a interrupção das conexões vasculares entre a planta-mãe e a semente em desenvolvimento.

O padrão radial de simetria, por sua vez, distingue vários tipos celulares, dispostos concentricamente, cada qual especializado em uma função: a camada externa de aleurona, a camada de subaleurona e a região especializada no armazenamento de reservas.

Desse modo, o endosperma maduro seria formado por quatro tipos celulares estrutural e funcionalmente distintos: as células formadoras da região que circunda o embrião, as células de transferência, as células ricas em amido e proteínas e as células da camada de aleurona (OLSEN, 2001). A diferenciação de cada um dos tipos celulares ocorre em integração com a celularização do endosperma.

Região que envolve o embrião

A função das células que ocupam essa região não está completamente elucidada, mas acredita-se que está relacionada à nutrição e proteção física do embrião.

Células de transferência

As células de transferência, as primeiras a se diferenciarem, desenvolvem-se sobre o tecido vascular da planta-mãe, estando relacionadas ao transporte de fotoassimilados da planta-mãe para o endosperma em desenvolvimento (MILLER; CHOUREY, 1992; CHENG et al., 1996; THOMPSON et al., 2001) e à defesa contra o ataque de microrganismos (SERNA et al., 2001; OLSEN, 2004). No milho, tais células já podem ser vistas aproximadamente seis dias após a fertilização.

Em cereais, as células de transferência são caracterizadas por proeminentes invaginações da parede celular secundária (BECRAFT, 2001; OLSEN, 2001), que aumentam a área superficial da membrana plasmática em aproximadamente 20 vezes (BECRAFT, 2001). Tais invaginações tendem a diminuir em intensidade em direção ao interior do endosperma (THOMPSON et al., 2001). Além disso, no início do desenvolvimento da semente, essas células apresentam complexo e extenso sistema de endomembranas, o que suporta a sua função no transporte de substâncias.

Como nas demais células especializadas que compõem o endosperma, há indícios de que o destino de cada célula resultante do processo de multiplicação celular seja definido pela posição que cada grupo de células ocupa no endosperma. No caso das células de transferência, em sementes de cevada em desenvolvimento, RNAs mensageiros específicos das células de transferência são encontrados na região onde tipicamente se desenvolve esse tipo de células, antes mesmo que se inicie o processo de celularização (OLSEN et al., 1999; BECRAFT, 2001). De acordo com Becraft (2001), o tecido placentário seria responsável pela produção de sinais que induziriam a transcrição específica de genes localizados na região placento-chalazal, cujo produto seria mantido nessa região através de associação com o citoesqueleto.

Para que o processo de diferenciação das células de transferência ocorra normalmente em sementes de milho, é necessário que a dupla fertilização leve ao desenvolvimento de um endosperma triploíde com dois núcleos haplóides originados da célula central do saco embrionário e um núcleo haplóide do grão de pólen, ou seja, uma proporção materno:paterna de 2:1. Desvios dessa proporção levam a desordens citoplasmáticas ao longo do processo de diferenciação das células de transferência que podem desencadear o

desenvolvimento anormal e/ou deficiente do endosperma (BECRAFT, 2001).

A camada de aleurona

A camada de aleurona envolve toda a superfície do endosperma, à exceção da região ocupada pelas células de transferência. No milho e no trigo, ela é formada por uma camada de células; no arroz, por uma a várias camadas de células, e na cevada, por três camadas de células (OLSEN, 2004).

As primeiras células a se especializarem na camada de aleurona originam-se logo após o início do processo de celularização do endosperma e após a retomada do processo mitótico anteriormente interrompido. A primeira divisão periclinal que ocorre na primeira camada de células periféricas do endosperma resulta na formação de duas camadas de células-filhas: a mais externa, que se constituirá na camada de aleurona, crescendo em superfície após sucessivas divisões anticlinais, e a camada interna que, após uma série de divisões mitóticas, especializar-se-á na síntese e armazenamento de substâncias de reserva. As células que se constituirão na camada de aleurona não apresentam padrão rigoroso de desenvolvimento. Ao contrário, sabe-se que, pelo menos em milho, tais células possuem grande plasticidade estrutural e funcional ao longo do desenvolvimento do endosperma, podendo se rediferenciar em células especializadas no armazenamento de reservas (BECRAFT; ASUNCION-CRABB, 2000; BECRAFT, 2001).

A principal função da camada de aleurona é prover o suprimento de enzimas hidrolíticas capazes de converter proteínas de reserva, lipídios e grãos de amido presentes no endosperma em aminoácidos, ácidos graxos e açúcares simples que garantam a retomada do crescimento do embrião ao longo do processo de germinação da semente. A produção dessas enzimas é possível pela síntese de novo sob estímulo hormonal, principalmente pela atuação das giberelinas. Após a germinação das sementes, as células da camada de aleurona entram em processo de morte celular programada (OLSEN, 2001; 2004).

Diferentemente das células especializadas no armazenamento de reservas, as células que compõem a camada de aleurona apresentam padrão ordenado de divisões celulares, orientado anticlinalmente e sendo responsável por garantir a rápida expansão em volume observada no processo de formação

da semente. Em sementes maduras de milho, a camada de aleurona consiste de aproximadamente 250.000 células, resultantes de cerca de 17 ciclos de divisões anticlinais (LEVY; WALBOT, 1990; WALBOT, 1994; OLSEN et al., 1999; OLSEN, 2001).

Ao longo do desenvolvimento da semente, as células da camada de aleurona passam por um processo que lhes confere tolerância à dessecação, de modo a suportarem a perda de água sofrida pelas sementes ao longo da maturação (OLSEN, 2004).

Similarmente ao processo de diferenciação das células de transferência, o desenvolvimento da camada de aleurona é dependente da relação materno:paterna de 2:1 decorrente da dupla fertilização. Nesse sentido, há relatos de que endospermas tetraplóides de milho foram ineficientes na diferenciação da camada de aleurona (CHARLTON et al., 1995).

Células especializadas no armazenamento de reservas

As células especializadas no armazenamento de substâncias de reserva constituem a maior parte do endosperma e originam-se a partir das camadas internas da primeira divisão periclinal que demarca a retomada do processo mitótico após o início da celularização do endosperma.

Diferentemente das células que compõem a camada de aleurona, as células especializadas no armazenamento de reservas dividem-se segundo planos aleatórios, até que toda a região central do tecido esteja completamente preenchida. Isso ocorre, em arroz, aproximadamente quatro dias após a fertilização e, em cevada, seis dias após a fertilização (OLSEN et al., 1999). O crescimento adicional das células ocorre através da expansão em seu volume, decorrente do armazenamento de reservas (BECRAFT, 2001).

No processo de diferenciação dessas células, frequentemente verifica-se a replicação do DNA sem ocorrência de mitose (LARKINS et al., 2001). Esse fato pode estar relacionado à necessidade de células grandes e metabolicamente ativas, capazes de sustentar elevada atividade de síntese e armazenamento de substâncias de reserva, principalmente proteínas e amido (BERGER, 2003).

Contrariamente às células da camada de aleurona, em geral, as células de armazenamento de reservas não são vivas na maturidade da semente,

passando, provavelmente, por mecanismos de morte celular programada (YOUNG et al., 1997; OLSEN et al., 1999; BECRAFT, 2001). Entretanto, esse padrão de desenvolvimento não ocorre em todas as espécies. Por exemplo, em sementes de mamona (*Ricinus comunis* L.), o processo de morte celular programada ocorre apenas após a germinação das sementes, fazendo com que todas as células que compõem o endosperma permaneçam metabolicamente ativas até o final de seu desenvolvimento (BECRAFT, 2001).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A despeito do vasto conhecimento acumulado referente ao desenvolvimento do endosperma, percebe-se que ainda existe muito trabalho a ser realizado para que todos os mecanismos envolvidos nas etapas de formação desse tecido venham a ser totalmente elucidados. Isso ressalta a necessidade de cooperação entre profissionais de diversas áreas afins, notadamente nos campos da genética, biologia celular, fisiologia e embriologia.

Até o presente, pode-se notar a grande semelhança nos eventos cruciais que demarcam as principais fases da formação do endosperma entre as espécies vegetais, assim como a semelhança entre mecanismos regulatórios presentes em outros estágios do desenvolvimento vegetal, sugerindo vias comuns de regulação do desenvolvimento das plantas como um todo.

AGRADECIMENTOS

Ao professor José da Costa Sacco, pelo estímulo e leitura crítica da presente revisão.

REFERÊNCIAS

- AQUILA, M. E. A. (2004). Tipos de diásporos e suas origens. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. p. 69-92.
- BECRAFT, P. W.; ASUNCION-CRABB, Y. T. (2000). Positional cues specify and maintain aleurone cell fate during maize endosperm develop-

ment. **Development**, v. 127, p.4039-4048.

BECRAFT, P. W. (2001). Cell fate specification in the cereal endosperm. **Cell and Developmental Biology**, v. 12, p. 387-394.

BERGER, F. (1999). Endosperm development. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 28-32.

BERGER, F. (2003). Endosperm: the crossroad of seed development. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, p. 42-50.

BOISNARD-LORIG, C. et al. (2001). Dynamic analyses of the expression of the HISTONE::YFP fusion protein in Arabidopsis show that syncytial endosperm is divided in mitotic domains. **The Plant Cell**, v. 13, p. 495-509.

BROWN, R. C. et al. (1999). Development of endosperm in Arabidopsis thaliana. **Sexual Plant Reproduction**, v. 12, p. 32-42.

CHARLTON, W. L. et al. (1995). Endosperm development in Zea mays: implication of gametic imprinting and paternal excess in regulation of transfer layer development. **Development**, v. 121, p. 3089-3097.

CHENG, W. H.; TALIERCIO, E. W.; CHOUREY, P. S. (1996). The miniature1 seed locus of maize encodes a cell wall invertase required for normal development of endosperm and maternal cells in the pedicel. **The Plant Cell**, v. 8, p. 971-998.

COCUCCI, A. E.; MARIATH, J. E. A. (2004). Gametogênese, fecundação, seleção do gametófito mais apto, embriogênese e diásporo maduro. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. p. 15-30.

COE, E. H. J. (1978). The aleurone tissue of maize as a genetic tool. In: WALDEN, D. B. (Ed.) **Maize Breeding and Genetics**. New York: John Wiley & Sons. p. 447-458.

ESAU, K. (1974). **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher. 293 p.

FAHN, A. (1985). **Anatomia vegetal**. Madri: Ediciones Pirámide. 599 p.

FRIEDMAN, W. E. (1994). Evidence of a preangiosperm origin of endosperm: implications for the evolution of flowering plants. **Science**, v. 255, p. 336-339.

FRIEDMAN, W. E. (1998). The evolution of double fertilization and endosperm: an 'historical' perspective. **Sexual Plant Reproduction**, v. 11, p. 6-16.

FRIEDMAN, W. D.; WILLIAMS, J. H. (2004). Developmental evolution of the sexual process in ancient flowering plant lineages. **The Plant Cell**, v. 16, p. S119-S132. Supplement.

GARCIA, D.; GERALD, J. N. F.; BERGER, F. (2005). Maternal control of integument cell elongation and zygotic control of endosperm growth are coordinated to determine seed size in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 17, n. 1, p. 52-60.

HEESE, M.; MAYER, U.; JÜRGENS, G. (1998). Cytokinesis in flowering plants: cellular process and developmental integration. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 1, p. 486-491.

HONG, Z.; DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. (2001 a). A cell plate-specific callose synthase and its interaction with phragmoplastin. **The Plant Cell**, v. 13, p. 755-768.

HONG, Z.; ZHANG, Z.; OLSON, J. M.; et al. (2001 b). A novel UDP-glucose transferase is a part of the callose synthase complex and interacts with phragmoplastin at the forming cell plate. **The Plant Cell**, v. 13, p. 769-780.

KRANZ, E. et al. (1998). Endosperm development after fusion of isolated, single maize sperm and central cells in vitro. **The Plant Cell**, v. 10, p. 511-

524.

LARKINS, B. A. et al. (2001). Investigating the hows and whys of DNA endoreduplication. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 183-192.

LEVY, A. A.; WALBOT, V. (1990). Regulation of the timing of transposable element excision during maize endosperm development. **Science**, v. 216, p. 1534-1537.

LIN, B. Y. (1984). Ploidy barrier to endosperm development in maize. **Genetics**, v. 107, p. 103-115.

MANSFIELD, S. G.; BRIARTY, L. G. (1990). Endosperm cellularization in *Arabidopsis thaliana* (L.). **Arabidopsis Information Service**, v. 27, p. 65-72.

MAHESHWARI, P. (1950). **An introduction to the embryology of angiosperms**. New York: McGraw-Hill. 431 p.

MAUSETH, J. D. (Ed.). (1988). **Plant anatomy**. California: Benjamin & Cummings. 560 p.

McCLINTOCK, B. (1984). The significance of responses of the genome to challenge. **Science**, v. 226, p. 792-801.

MILLER, M. E.; CHOUREY, P. S. (1992). The maize invertase-deficient miniature-1 seed mutation is associated with aberrant pedicel and endosperm development. **The Plant Cell**, v. 4, p. 297-305.

NGUYEN, H.; BROWN, R. C.; LEMMON, B. E. (2001). Patterns of cytoskeletal organization reflect distinct developmental domains in endosperm of *Coronopus didymus* (Brassicaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 162, n. 1, p. 1-14.

OLSEN, O. A. (2001). Endosperm development: cellularization and cell fate specification. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular**

Biology, v. 52, p. 233-267.

OLSEN, O. A.; LINNESTAD, C.; NICHOLS, S. E. (1999). Developmental biology of the cereal endosperm. **Trends in Plant Science**, v. 4, n. 7, p. 253-257.

OLSEN, O. A. (2004). Nuclear endosperm development in cereals and *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Cell**, v. 16, p. S214-S227. Supplement.

OTEGUI, M. S. et al. (2001). Three-dimensional analysis of syncytial-type cell plates during endosperm cellularization visualized by high resolution electron tomography. **The Plant Cell**, v. 13, p. 2033-2051.

OTEGUI, M. S.; STAEHELIN, L. A. (2000). Syncytial-type cell plates: a novel kind of cell plate involved in endosperm cellularization of *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 12, p. 933-947.

SERNA, A. et al. (2001). Maize endosperm secretes a novel antifungal protein into adjacent maternal tissue. **Plant Journal**, v. 25, p. 687-698.

SORENSEN, M. B. et al. (2002). Cellularisation in the endosperm of *Arabidopsis thaliana* is coupled to mitosis and shares multiple components with cytokinesis. **Development**, v. 129, p. 5567-5576.

STAEHELIN, L. A.; HEPLER, P. K. (1996). Cytokinesis in higher plants. **Cell**, v. 84, p. 821-824.

SYLVESTER, A. W. (2000). Division decisions and the spacial regulation of cytokinesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, p. 58-66.

THOMPSON, R. D. et al. (2001). Development and functions of seed transfer cells. **Plant Science**, v. 160, p. 775-783.

TIAN, G. W. et al. (1998). Microtubular cytoskeleton of free endosperm nuclei during division in wheat. **Cytologia**, v. 63, p. 427-433.

VERMA, A. P. S. (2001). Cytokinesis and building of the new cell plate in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, p. 751-784.

VIJAYARAGHAVAN, M. R.; PRABHAKAR, K. (1984). The endosperm. In: JOHRI, B. M. (Ed.). **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, p. 319-376.

WALBOT, V. (1994). Overview of key steps in aleurone development. In: FREELING, M.; WALBOT, V. (Ed.) **The Maize Handbook**. New York: Springer-Verlag, p. 78-80.

YOUNG, T. E.; GALLIE, D. R.; DeMASON, D. A. (1997). Ethylene-mediated programmed cell death during maize endosperm development of wild type and shrunken 2 genotypes. **Plant Physiology**, v. 115, p. 737-751.