

## ASPECTOS DA MORFOLOGIA FLORAL DA AMOREIRA (*Morus alba* L.)

TAMARA CANTO FONSECA<sup>1</sup>; SILVIA MARINA CUOCO<sup>2</sup> e SILVANIA MACHADO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Etologia, Ambiência e Manejo Instituto de Zootecnia, Caixa postal 60, 13460-000, Nova Odessa, SP

<sup>2</sup>Departamento de Genética, ESALQ/USP, Caixa postal 83, 13.400-970, Piracicaba, SP

<sup>3</sup>Núcleo de Apoio a Pesquisa em Microscopia Eletrônica aplicada a Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) ESALQ/USP, Caixa postal 83, 13.400-970, Piracicaba, SP

RESUMO: Flores femininas e masculinas de amoreira (*Morus alba* L.) foram morfológicamente analisadas com o objetivo de se complementar estudo anterior que detectou a ocorrência freqüente de flores monóclinas, fato anteriormente tido como raro na espécie. Botões florais de três clones (IZ 15/1, IZ 15/7 e IZ 56/4) e da variedade Calabresa foram coletados, fixados em etanol acético (3:1) e posteriormente processados para análise sob microscopia eletrônica de varredura. As análises mostraram que os clones IZ 15/1 e IZ 15/7 e a variedade calabresa apresentam flores exclusivamente díclinas, enquanto o clone IZ 56/4 possui flores díclinas e monóclinas, estas detectadas pela ocorrência de gineceu rudimentar. Outras características como presença de cristólitos, estômatos e tricomas na epiderme floral também foram observados.

Palavras-chave: microscopia de varredura, amoreira, *Morus*, flor.

### MORPHOLOGICAL FLOWER ASPECTS IN MULBERRY (*Morus alba* L.)

ABSTRACT: Female and male flowers of mulberry (*Morus alba* L.) were morphologically analysed aiming to complete a previous study that detected a frequent occurrence of monoclinal flowers, considered a rare event. Flower buds of three clones (IZ 15/1, IZ 15/7 and IZ 56/4) and the Calabresa variety were collected, fixed in acetic ethanol (3:1) and then processed for SEM analysis. Results have shown that IZ 15/1 and IZ 15/7 clones and Calabresa variety presented only dicline-type flowers, whereas the IZ 56/4 clone presented both dicline and monoclinal flowers, the latter recognized by the rudimentary gymneceum. Other characteristics as cristolite, stomata and trichomas on flower epidermic tissue were also observed.

Key words: SEM, mulberry, *Morus*, flower.

## INTRODUÇÃO

A amoreira (*Morus* sp) tem sido bastante estudada quanto às características aplicadas, especialmente no que se refere à sua utilização na alimentação do bicho da seda (*Bombyx mori* L.). No entanto, estudos básicos são escassos e pouco se conhece, por exemplo, sobre aspectos morfológicos e citológicos, ainda que essenciais para classificação taxonômica bem como para um

melhor entendimento da planta com vistas a programas de melhoramento genético.

Estudo recente realizado em plantas pertencentes ao banco de germoplasma de amoreira, mantido no Instituto de Zootecnia de Nova Odessa (FONSECA, 1997) relata as dificuldades encontradas na classificação taxonômica do gênero. A ausência de isolamento reprodutivo sugere que todos os clones pertencem a uma mesma espécie, *Morus alba* L (SUSHEELAMMA *et al.* 1990). Esta situação está bem exposta no

trabalho de TING-ZING *et al.*(1988) que discorre sobre as diversas tentativas de classificação, desde Carolus Linnaeus em meados de 1700 até G.Moretti em 1942, onde fica evidente a complexidade do gênero.

O gênero *Morus*, da família Moraceae, compreende 68 espécies, sendo a maioria de ocorrência na Ásia (DATTA, 2000). Na China existem mais de mil variedades em cultivo desenvolvidas a partir de quatro espécies, a saber, a amoreira branca (*Morus alba*), a amoreira Lu (*M. multicaulis*), a amoreira da montanha (*M. bombycis*) e a amoreira Guangdong (*M. atropurpureum*) (YONGKANG, 2000). Na Índia, as principais espécies são, *M. indica*, *M. alba*, *M. serrata* e *M. laevigata* (RAVINDRAN *et al.*1987). As espécies mais populares no mundo são *M. alba* e *M. indica*, que têm sido objeto de intensa seleção a partir de polinização aberta, hibridização controlada e seleção, em vários países (SÁNCHEZ, 2000). No Brasil existem cerca de 90 variedades, todas desenvolvidas a partir de *M. alba* L. (ALMEIDA e FONSECA, 2000).

As flores de *Morus* são, em sua maioria, díclinas, pequenas e sésseis, agrupadas em

inflorescências cujo sexo depende da variedade (FONSECA, 1997; KOIDZUME, O.T.C.A. 1971). Algumas inflorescências apresentam flores díclinas masculinas (estaminadas) e díclinas femininas (pistiladas), outras possuem um ou outro tipo e raras apresentam flores monóclinas, ou seja, com estames e pistilos (O.T.C.A,1971; TING-ZING *et al.* 1988).

O presente trabalho teve como objetivo dar continuidade a estudo anterior sobre a morfologia floral de amoreira (FONSECA, 1997) que havia detectado a ocorrência freqüente de flores monóclinas na espécie, fato citado como raro até então. Além disso, com a análise sob microscopia eletrônica de varredura, estruturas como estomatos, cistólitos, tricomas e verticílios florais puderam ser observadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Botões florais de três clones de amoreira, a saber, IZ15/1, IZ15/7 e IZ56/4 e da variedade calabresa, cujas características são apresentadas no Quadro 1, foram utilizados neste estudo.

**Quadro 1. Características das plantas estudadas**

Clone	Flores	Origem	Fonte
Calabresa	DF	variedade importada da Itália	FONSECA <i>et al.</i> ,1985 <sup>a</sup>
IZ15/1	DF	cruzamento entre Calabresa e Nezumigaeshi	FONSECA <i>et al.</i> ,1985 <sup>b</sup>
IZ15/7	DM	cruzamento entre Calabresa e Nezumigaeshi	FONSECA <i>et al.</i> ,1985 <sup>b</sup>
IZ 56/4	DM, DF, M	cruzamento entre Formosa e Catânia Paulista	FONSECA <i>et al.</i> ,1985 <sup>b</sup>

DF: díclina feminina; DM: díclina masculina; M: monóclina

As coletas dos botões florais foram realizadas em várias estações florais, em horários variáveis de 5:30 às 22:30, a partir de plantas pertencentes à coleção mantida no Centro Estadual de Pesquisa Aplicada à Sericultura (CEPAS), localizado em Gália/SP e pertencente ao Instituto de Zootecnia, da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo. Na coleta as inflorescências foram imediatamente fixadas em etanol acético na proporção de 3:1 onde permaneceram por 24 horas e a seguir foram conservadas em etanol 70%, sob refrigeração. Posteriormente as flores foram individualizadas e preparadas para análise sob

microscopia de varredura, seguindo-se os procedimentos descritos por KITAJIMA (1997), com algumas modificações. Parte das flores foi colocada em fixador Karnovsky, com ou sem a passagem por tampão cacodilato e tetróxido de ósmio. Posteriormente, todas foram desidratadas através de passagem por série de acetonas (30, 50, 70, 95 e 100%), secas ao ponto crítico (em equipamento Balzers - CPD 030) e metalizadas com ouro (por 180 minutos). A seguir os espécimes foram analisados em equipamento Zeiss, modelo DSM 940A.

As análises foram realizadas no Núcleo de Apoio a Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP, em Piracicaba/SP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Figuras 1 e 2 podem ser observadas as diversas estruturas que compõem as flores da amoreira. Dentre os procedimentos utilizados para processamento dos espécimes os que resultaram nas melhores preparações foram aqueles que empregaram passagem pelo fixador Karnovsky, com ou sem emprego de tampão cacodilato e tetróxido de ósmio, e posterior desidratação e metalização.

Pôde-se observar que as plantas dos clones IZ15/1 (Figura 1a,b), IZ15/7 e a variedade calabresa (Figura 1f) produzem somente flores díclinas, enquanto o clone IZ56/4 (Figura 2a,b) apresenta flores díclinas e monóclinas, sendo estas em menor frequência, embora não raras. Observou-se que o gineceu apresenta-se totalmente protegido pelas tépalas (Figura 1a); com o estilo quase ausente, aspecto morfológico característico da espécie *M. alba*, de acordo com Koidzume (O.T.C.A.,1971).

Na Figura 1 podem ser observadas algumas características da morfologia externa da flor feminina do clone IZ15/1. Nota-se que o ovário está totalmente protegido pelo perianto (Figura 1a) e na porção apical das tépalas há grande concentração de estômatos, (Figura 1a,c), alguns cystólitos (Figuras 1a,d) e a presença de tricomas terminais (Figura 1a,e). A presença de cystólitos havia sido anteriormente observada nas folhas da amoreira por KATSUMATA (1971), que utilizou a formação dos idioblastos, que são as estruturas em cujo interior formam-se os cystólitos, como um dos tópicos para a classificação taxonômica da amoreira. A Figura 1b apresenta um ovário do qual foram excisadas as tépalas e nota-se na Figura 1f a presença de muitos estômatos ao longo do estilete da flor feminina da variedade calabresa, ocorrência que não se repetiu nos demais materiais analisados.

No eixo central das flores masculinas do clone IZ56/4 (Figura 2a,b), observou-se a presença de uma estrutura semelhante a um gineceu rudimentar. Em alguns casos seu aspecto é muito parecido ao de um gineceu funcional, o que indica a possibilidade de existirem flores monóclinas neste clone. No entanto, estudos mais detalhados devem ser conduzidos para se determinar a funcionalidade ou não desta estrutura. Contrariando o que havia afirmado TING-ZING *et al.* (1988) sobre a existência de baixa porcentagem de flores monóclinas, o presente estudo constatou a ocorrência não rara de flores bissexuais na espécie.

Na Figura 2c pode-se observar que grande quantidade de grãos-de-pólen é produzida nos estames do clone IZ56/4, cuja morfologia pode ser observada na Figura 2d. Diferentemente da flor feminina, que apresenta perianto liso, com estômatos e cystólitos espalhados superficialmente e com tricomas somente nas extremidades (Figura 1a) a flor masculina apresenta a face externa do perianto repleta de tricomas e estômatos (Figura 2e). WU e KUO-HUANGL.(1997), analisou folhas de 8 espécies de Moraceae, entre elas *Morus australis*, e encontrou cristais de oxalato de cálcio e carbonato de cálcio em sua superfície superior. A presença de cystólitos na flor de amoreira é concordante com as observações de FAHN (1990) sobre a sua localização em diversos órgãos da planta. Não há consenso sobre a função que os cystólitos possuem nas plantas. Possivelmente funcionam como reservatórios de cálcio que podem suprir eventuais deficiências (SMITH, 1982) e a presença ou ausência dos cristais de cálcio é, segundo FRANCHESCHI e HORNER (1980), uma importante característica considerada na análise das relações evolucionárias de plantas.

## CONCLUSÕES

As análises mostraram que as flores dos clones IZ 15/1 e IZ 15/7 possuem exclusivamente as estruturas florais femininas e masculinas, respectivamente, e que o clone IZ 56/4 possui flores masculinas contendo estruturas semelhantes a um pseudo-gineceu ou gineceu rudimentar. As estruturas observadas no clone IZ 56/4 indicam a ocorrência de flores monóclinas em *Morus alba*.

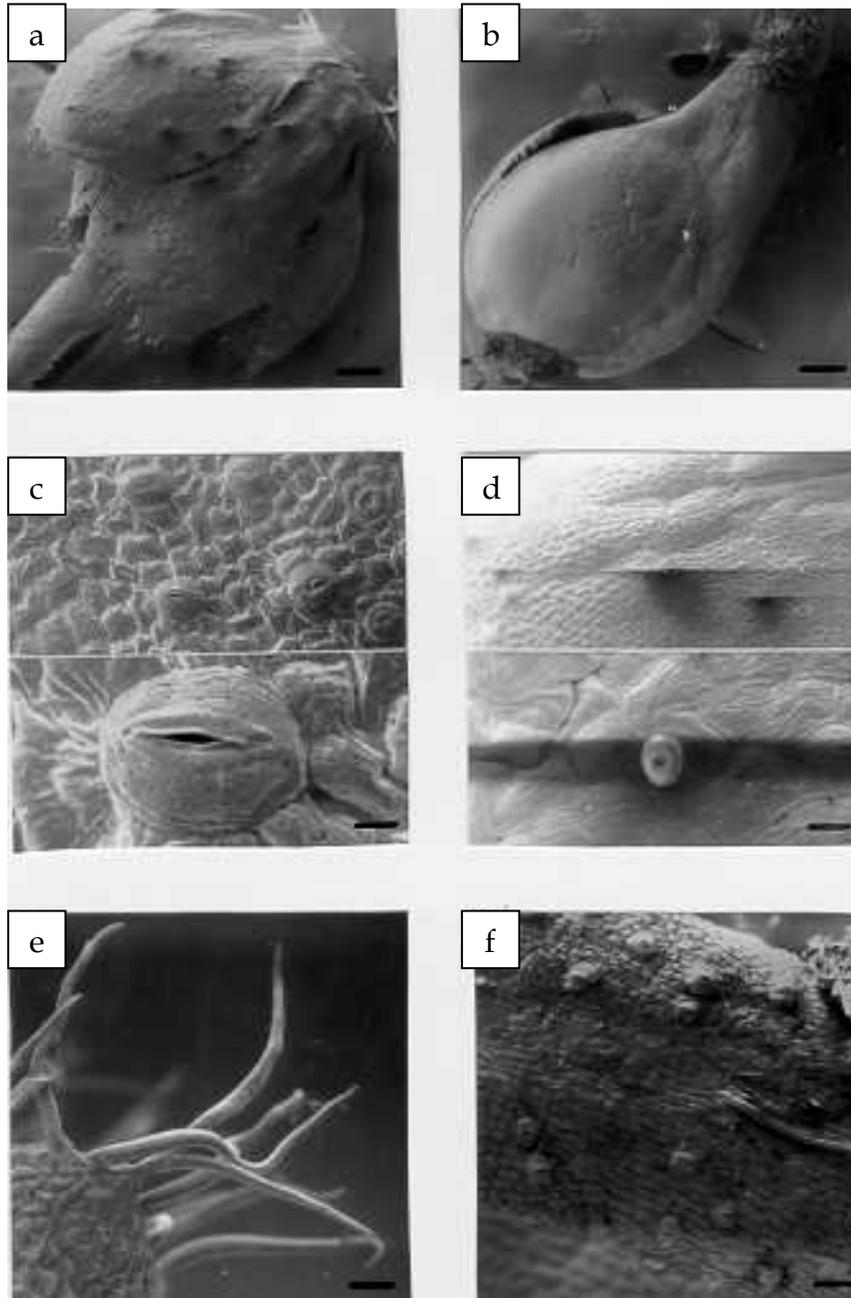


Figura 1. Características da morfologia da flor feminina de amoreira. a) Flor feminina do clone IZ 15/1 mostrando o ovário protegido pelo perianto onde se pode visualizar grande número de estômatos (cabeças de setas), alguns cystólitos (setas) e tricomas terminais. A barra corresponde a 200 $\mu$ m; b) Flor feminina de IZ 15/1 da qual foram excisadas as tépalas, expondo o ovário. Barra = 200 $\mu$ m; c) Estômatos presentes nas tépalas do clone IZ 15/1 e ampliação de um deles no detalhe. Barra = 20 $\mu$ m; d) Três cystólitos na epiderme do clone IZ 15/1, sendo um deles mais detalhado na parte inferior. Barra = 50 $\mu$ m; e) Foto mostrando a presença de tricomas terminais nas tépalas de flores do clone IZ 15/1. Barra = 20 $\mu$ m; f) Estilete de flor feminina da variedade calabresa onde pode-se observar grande concentração de estômatos. Barra = 50 $\mu$ m.

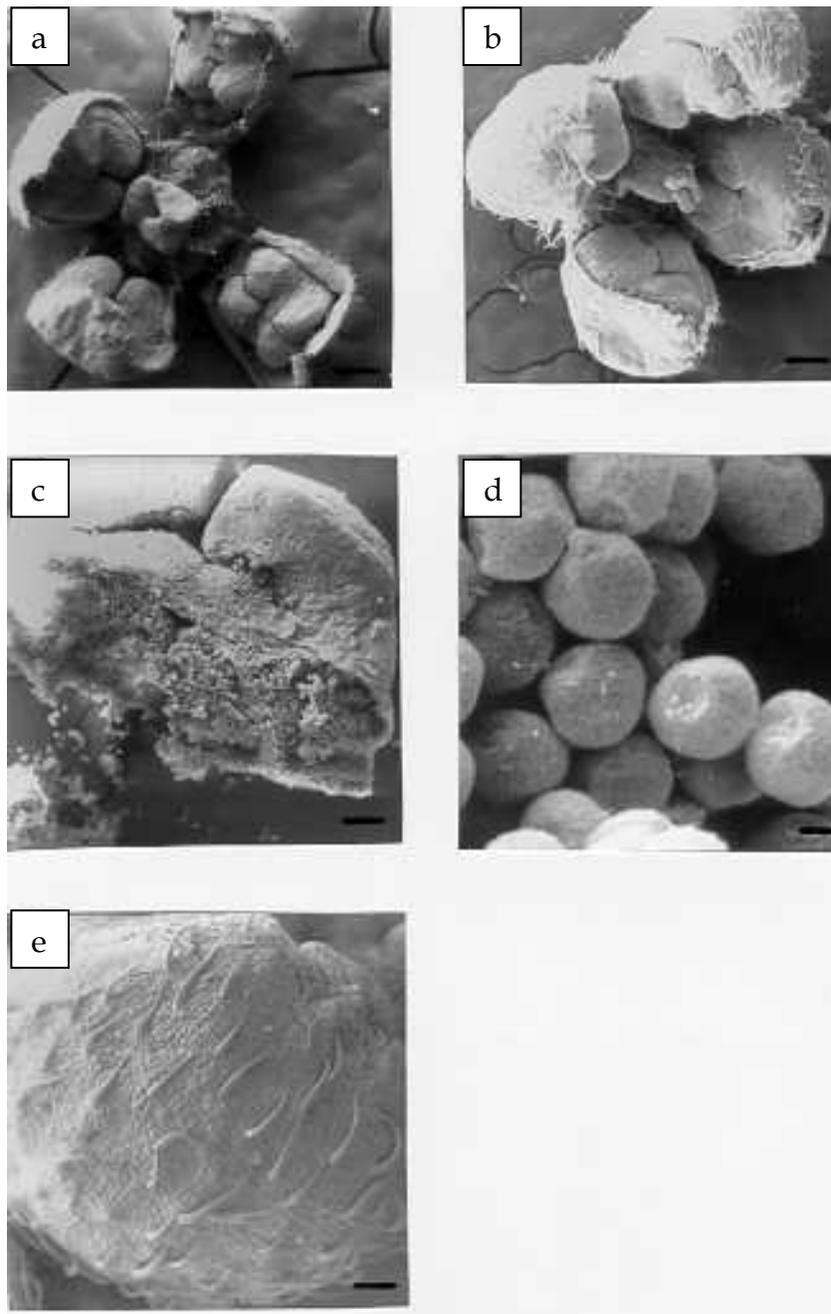


Figura 2. Aspectos de flores masculinas do clone IZ 56/4 de amoreira. a,b) No eixo central das flores, circundado pelas anteras, podem ser visualizadas estruturas semelhantes a um gineceu rudimentar. Barra = 350 $\mu$ m; c,d) Grande quantidade de grãos de pólen são produzidos nas anteras. Barras representam 100 $\mu$ m (figura c) e 5 $\mu$ m (figura d); e) A face externa do perianto das flores masculinas apresenta-se repleta de tricomas e estômatos. Barra = 100 $\mu$ m.

## AGRADECIMENTOS

Aos professores Gerhard Bandel, do Departamento de Genética, e Elliot Kitajima, do NAP/MEPA, ambos da ESALQ/USP, em Piracicaba/SP, pelas facilidades concedidas na utilização dos laboratórios e equipamentos sob suas responsabilidades.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, J.E.; FONSECA, T.C.. Revision of mulberry (*Morus* spp) studies in Brazil. *Morus1-L*, the FAO Electronic Conference on MULBERRY FOR ANIMAL PRODUCTION, 2.000.
- DATTA, R.K. Mulberry cultivation and utilization in India. *Morus1-L*, the FAO Electronic Conference on MULBERRY FOR ANIMAL PRODUCTION, 2.000.
- FAHN, A.. Plant Anatomy. 4th ed. Pergamon Press. Oxford. 1990
- FONSECA, T. C.. Estudos citológicos em amoreira, *Morus alba* L. ESALQ, USP. Piracicaba, SP. 1997 (tese de doutorado).
- FRANCHESCHI, V.R.; HORNERH, T., Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review* 46, 361-427, 1980
- KITAJIMA, E. W. Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura. Núcleo de Apoio a Pesquisa em Microscopia Eletrônica aplicada a pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior e Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP, Piracicaba.(apostila), 1997. 37p.
- KATSUMATA, F. Shape of idioblasts in mulberry leaves with special reference to the classification of mulberry trees. *Journal Sericultura Science Japan* v.40, n.4, p.313-322, 1971.
- OVERSEAS TECHNICAL COOPERATION AGENCY (O.T.C.A.) Sericulture. Tokyo, Japan. (Technical Book Series 18), 1971. 127p.
- RAVINDRAN, S. *et al.* Modification of sex expression in mulberry (*Morus alba* and *M.indica*) by silver thiosulphate. *Current Science* v56, n.2, p.105-106, 1987)..
- SANCHEZ, M. World distribution and utilization of mulberry, potential for animal feeding. *Morus1-L*, the FAO Electronic Conference on MULBERRY FOR ANIMAL PRODUCTION, 2.000.
- SMITH, D.L. Calcium oxalate and carbonate deposits in plant cells, pp.253-261. In: L. J. Anghileri and A. M. Tuffet-Anghileri.(eds) *The Role of Calcium in Biological Systems*, CRC Press, Boca Raton, Florida. vol. 1, 1982
- SUSHEELAMMA, B.N.; KUMAR, J.S.; DANDIN, S.B. *et al.* Kariomorphological studies in a few exotics varieties of genus *Morus* L. *Cytologia* v.55, n.1, p.107 - 114, 1990.
- TING-ZING, Z.; YUN-FANG, T.; GUANG-XIAN, H. *et al.* Mulberry Cultivation FAO Agriculture Services Bulletin 73/1. Rome.,1988. 127p.
- YONG-KANG, H. Mulberry cultivation in China. *Morus1-L*, the FAO Electronic Conference on MULBERRY FOR ANIMAL PRODUCTION, 2.000.
- WU,C.C., KUO-HUANG,L.L.. Calcium crystals in the leaves of some species of Moraceae. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* v.38, n.2 p.97-104, 1997.