



ASPECTOS ANATÔMICOS E HISTOQUÍMICOS DO EMBRIÃO ZIGÓTICO DE AÇAÍ SOLTEIRO (*Euterpe precatoria* Mart.)

ANATOMICAL AND HISTOCHEMICAL ASPECTS OF THE AÇAÍ (*Euterpe precatoria* Mart.) ZYGOTIC EMBRYO

Inaê Mariê de Araújo Silva-Cardoso¹; Cheila Deisy Ferreira¹; Jéssica Cristina Barbosa Ferreira¹;
Frederico Henrique da Silva Costa²; Jonny Everson Scherwinski-Pereira³

¹ Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, DF, Brasil. inaemarielfloresta@gmail.com, cheiladeisy@yahoo.com.br, jessicacbf.ifmg@gmail.com (Apresentadora do trabalho).

² Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rodovia BR 364, Km 04 - Distrito Industrial, 69920-900, Rio Branco, AC, Brasil. fredericohenrique@yahoo.com.br.

³ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Av. W5 Norte (final), 70770-917, Brasília, DF, Brasil. jonny.pereira@embrapa.br.

INTRODUÇÃO

Euterpe precatoria, conhecido como “açai-do-amazonas”, é uma palmeira nativa da região Amazônica (YAMAGUCHI et al., 2015). Assim como *E. oleracea* esta espécie tem chamado a atenção da comunidade científica, dadas as propriedades fitoquímicas dos seus frutos, dentre as quais destacam-se as anticancerígenas e cardioprotetoras (QUIROGA; SOLEDAD; MARY, 2017). Apesar da importância ecológica e econômica dessa palmeira, a literatura é limitada em diferentes aspectos, principalmente, no que se refere a sua propagação. Nesse contexto, salienta-se a importância da realização de estudos morfoanatômicos de estruturas reprodutivas para melhor compreensão do processo germinativo e na interpretação de testes de germinação e de vigor (RODRIGUES; MENDONÇA; GENTIL, 2015), além de estudos histoquímicos dos principais compostos de reservas, fundamentais ao processo germinativo.

Oliveira et al. (2013) salientam que apesar da significância e variedade da família das palmeiras, há um déficit de literatura sobre a caracterização das reservas de sementes, com estudos limitados a poucas espécies. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi caracterizar anatômico e histoquimicamente embriões zigóticos de *E. precatoria* Mart., visando, mediante os conhecimentos adquiridos, melhor compreender e otimizar sua propagação.

MATERIAL E MÉTODOS

Embriões zigóticos foram obtidos de sementes de frutos em estágio fisiológico maduro de plantas adultas de açai solteiro (*E. precatoria*), coletadas de populações naturais no município de Plácido de Castro, Acre. A extração da semente foi realizada utilizando-se um torno de bancada. Logo depois, as sementes foram seccionadas e os embriões isolados.

Para as análises anatômicas, embriões zigóticos foram submetidos às etapas de fixação, desidratação e emblocamento, conforme o seguinte protocolo: fixação em solução de Karnovsky



modificada (KARNOVSKY, 1965), composta por paraformaldeído 4%, glutaraldeído 2,5% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M (pH 7,2), por um período de 24 horas (sob vácuo durante a primeira hora), seguida de três lavagens em solução de cacodilato de sódio (0,05 M, pH 7,2), por um período de 1 hora cada (sob vácuo); logo após, desidratação em série alcoólica crescente (30-100%), por uma hora cada (sob vácuo) e infiltração em historesina (Leica, Heidelberg, Alemanha), segundo as especificações do fabricante. Posteriormente, cortes longitudinais e transversais (3-7 μm) foram obtidos em micrótomo rotativo manual (Leica®, RM212RT), distendidos e aderidos às lâminas microscópicas em placa aquecida à 40 °C.

As secções obtidas foram coradas com Azul de Toluidina (0,5%) para caracterização estrutural e identificação de compostos fenólicos (O'BRIEN; FEDER; MCCYLLY, 1964). Uma parte das secções também foram submetidas aos seguintes testes histoquímicos: *Xylidine Ponceau* – XP utilizado para visualização de proteínas (VIDAL, 1970); *Periodic Acid Schiff* – PAS (O'BRIEN; MCCULLY, 1981) usado para identificar polissacarídeos neutros e Lugol (JOHANSEN, 1940) para detecção de grãos de amido. Material fresco foi corado com Sudan III (PEARSE, 1972) para visualização de lipídeos totais. A obtenção e análise de imagens foram realizadas via microscópio Leica DM 750 e programa Leica Application Suite EZ.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A semente do açaí solteiro (*E. precatoria*) compreende a maior parte do fruto e é envolta por fibras mesocárpicas, após a remoção da polpa (Figura 1A). O endosperma é envolto por um tegumento delgado amarronzado e exibe uma pequena cavidade periférica onde o embrião zigótico se encaixa (Figura 1B). Conforme observado na Figura 1B, o endosperma é denso, rígido, homogêneo, esbranquiçado e brilhante, como previamente mencionado por Aguiar e Mendonça (2003).

O embrião zigótico do açaí solteiro é pequeno em relação ao volume total do endosperma. É cônico e apresenta uma região distal mais estreita, embebida no endosperma, que corresponde ao haustório (Figura 1B, C) e uma região proximal (basal) mais larga, adjacente ao tegumento da semente, onde localiza-se o eixo embrionário (Figura 1B, C). A região distal, especificamente, tem a função de mobilizar reservas das sementes durante o processo germinativo (DEMASON, 1988; RIBEIRO et al. 2012).

A duas regiões podem ser distinguidas pela sua coloração, onde no material fresco, imediatamente após a remoção do embrião da semente, a porção com coloração mais amarelada corresponde à região proximal, ao passo que a porção com coloração variando entre bege a esbranquiçada corresponde à região distal (Figura 1C).

O embrião é composto por cotilédone e eixo embrionário sendo este último formado por plúmula e eixo hipocótilo-radícula. O eixo embrionário é curvo, obliquamente posicionado com relação ao eixo longitudinal do embrião (Figura 1D). O posicionamento oblíquo do eixo embrionário também é uma característica de outras palmeiras de diferentes gêneros, como *Oenocarpus minor* (OLIVEIRA;



MENDONÇA; ARAÚJO, 2010), *Bactris maraja* (RODRIGUES; MENDONÇA; GENTIL, 2015) e *Mauritia flexuosa* (SILVA et al., 2014). Os primórdios foliares e o promeristema caulinar (composto por células pequenas, isodiamétricas, arranjadas compactamente, com alta relação núcleo citoplasma, sem vacúolos evidentes) formam a plúmula com protoderme definida (Figura 1D, E), localizada na cavidade cotiledonar que é formada pela lígula. A lígula apresenta a fenda cotiledonar, que cria uma abertura para o ambiente externo (Figura 1D3, D4, F), semelhante ao relatado em *M. flexuosa* (SILVA et al., 2014). Essa cavidade é pressionada durante o processo germinativo, permitindo a emergência da plúmula (AGUIAR; MENDONÇA, 2003). O eixo hipocótilo-radícula é indiferenciado, sem protoderme definida, como também mencionado nas palmeiras *Acrocomia aculeata* (RIBEIRO; OLIVEIRA; GARCIA, 2012), *M. flexuosa* (SILVA et al., 2014) e *B. maraja* (RODRIGUES; MENDONÇA; GENTIL, 2015) e posiciona-se centralmente ao corpo do embrião (Figura 1D). No eixo embrionário, as células são menores e com arranjo mais compacto em comparação com as demais células do embrião (Figura 1D, E).

O cotilédone é simples e, como visualizado na Figura 1D, exibe protoderme, meristema fundamental e procâmbio totalmente diferenciados e facilmente distinguíveis por meio dos formatos e posições de suas células. A protoderme é unisseriada com células justapostas, variando de quadrada à retangular, e com núcleos evidentes (Figura 1D, G). As células procambiais são estreitas, longitudinalmente alongadas e agrupadas em cordões (Figura 1D, H). Os cordões procambiais são direcionados para a região distal, onde tornam-se gradualmente mais periféricos e paralelos ao comprimento do embrião (Figura 1D).

Adicionalmente, verificaram-se abundância de idioblastos com ráfides inclusas (Figura 1I) e de compostos fenólicos (Figura 1J), sobretudo, na região proximal, nas vizinhanças do eixo embrionário (Figura 1D). Conforme Oliveira, Mendonça e Araújo (2010), tais compostos, também observados em *O. minor*, provavelmente têm função protetiva do eixo embrionário.

Menciona-se que a literatura descritiva dos aspectos anatômicos do embrião zigótico de *E. precatória* até o momento é limitada ao trabalho de Aguiar e Mendonça (2003). Já em termos de histoquímicos, este é o primeiro trabalho sobre a espécie. As análises histoquímicas revelaram a presença de corpos proteicos, por reação positiva com XP, com diferentes tamanhos e formatos ao longo de toda região haustorial (Figura 2K) e nas proximidades do eixo embrionário. Corpos proteicos mais fragmentados foram visualizados ao redor dos cordões procambiais (Figura 2K). Além de proteínas, grãos de amido diminutos e em pequenas quantidades também foram identificados na plúmula e nas suas proximidades (Figura 2L) e na extremidade distal, por meio dos corantes PAS e Lugol. Observaram-se também corpos lipídicos arredondados em células do meristema fundamental e da protoderme, conforme reação positiva com Sudan IV (Figura 2M).

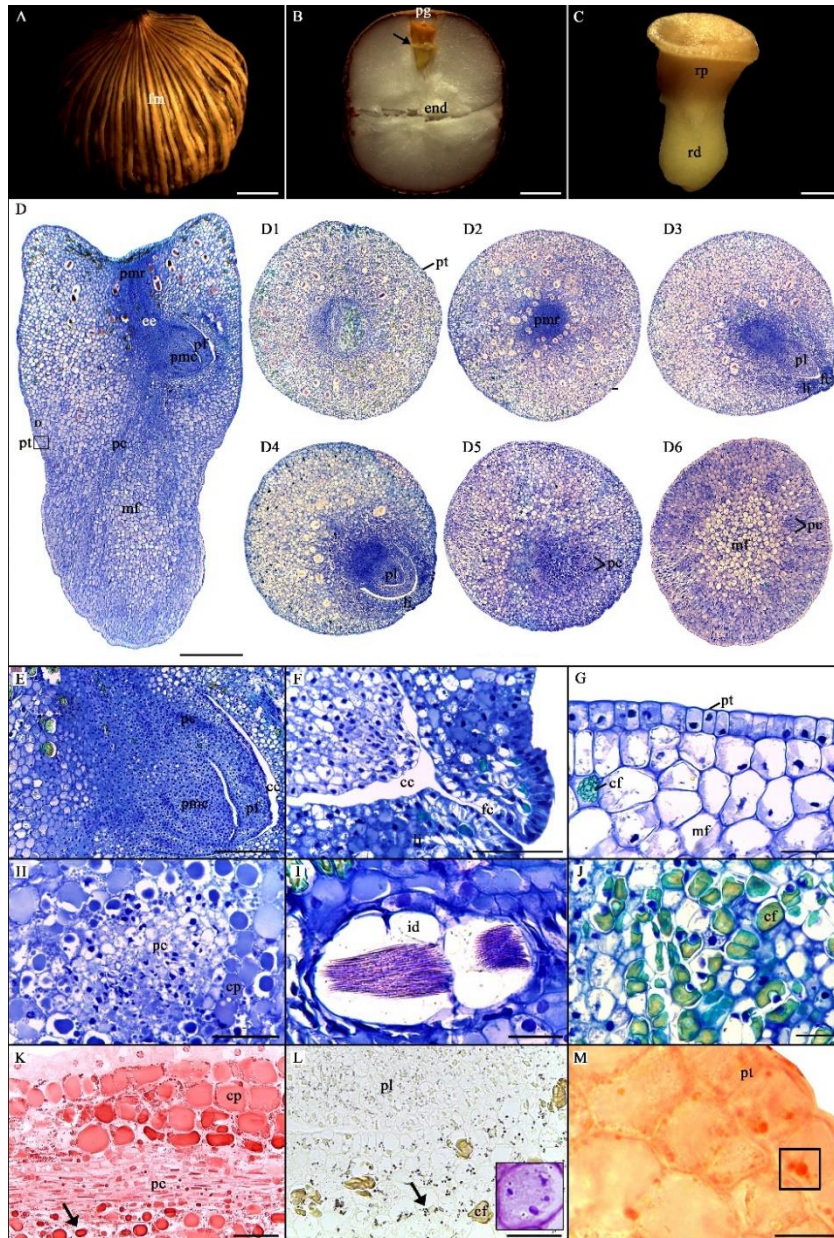


FIGURA 1 - Semente e embrião zigótico de açai solteiro (*Euterpe precatoria*) (A-C, morfologia; D-J, anatomia e K-M, histoquímica). A: Semente com fibras mesocárpicas. B: Embrião zigótico (seta) inserido em região periférica do endosperma; notar poro germinativo. C: Embrião zigótico. D: Secção longitudinal do embrião zigótico (D1-D6: secções transversais). E: Plúmula. F: Lígula, fenda cotiledonar e cavidade cotiledonar. G: Detalhe da protoderme e meristema fundamental. H: Detalhe do procâmbio (corte transversal); notar corpos proteicos. I: Idioblastos com ráfides. J: Compostos fenólicos. K: Corpos proteicos corados com *Xylidine Ponceau* (seta). L: Grãos de amido corados com Lugol (seta); detalhe de grãos de amido corados com *Periodic Acid Schiff* (quadrado lateral). M: Corpos lipídicos corados com Sudan III (quadrado). Abreviações: (cc) cavidade cotiledonar, (cf) composto fenólico, (cp) corpos proteicos, (ee) eixo embrionário, (end) endosperma, (ez) embrião zigótico, (fc) fenda cotiledonar, (fm) fibra mesocárpica, (id) idioblasto, (li) lígula, (mf) meristema fundamental, (pc) procâmbio, (pf) primórdio foliar, (pg) poro germinativo, (pl) plúmula, (pmc)



promeristema caulinar, (pmr) promeristema radicular, (pt) protoderme, (rd) região distal e (rp) região proximal. Barras = A, B: 2 mm; C: 0,5 mm; D: 500 µm; E: 200 µm; F-L: 50 µm e M: 20 µm.

Conteúdo proteico e lipídico abundante em embriões zigóticos é uma característica comum a palmeiras de diferentes gêneros (DEMASON, 1988; PANZA; LÁINEZ; MALDONADO, 2004; RODRIGUES; MENDONÇA; GENTIL, 2015; CARDOSO, 2018) e ambos subsidiam o crescimento do embrião durante o processo germinativo como reserva alimentar. Já a presença de grãos de amido em embriões zigóticos de palmeiras, geralmente, não são comuns, com poucos relatos, como em *E. edulis* (PANZA; LÁINEZ; MALDONADO, 2004), *B. capitata* (OLIVEIRA *et al.*, 2013) e *Syagrus oleracea* (CARDOSO, 2018) e, provavelmente, funcionam como fonte adicional de energia.

CONCLUSÕES

Proteínas destacam-se com as principais reservas de embriões zigóticos de *E. precatória*. Os caracteres anatômicos e histoquímicos do embrião zigótico de *E. precatória* Mart. descritos neste trabalho podem subsidiar a melhor compreensão do processo germinativo da espécie.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M.O.; MENDONÇA, M.S. Morfo-anatomia da semente de *Euterpe precatória* Mart. (Palmae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n.1, p. 37-42, 2003.
- CARDOSO, I.M.A.S. **Embriogênese somática de gueroba [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.] com ênfase em aspectos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais**. 2018. 359p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.
- DEMASON, D.A. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm *Washingtonia filifera*. **American Journal of Botany**, United States, v. 75, n. 3, p. 330-337, 1988.
- JOHANSEN, D. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill, 523 p. 1940.
- KARNOVSKY, M.J. A. formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137-138, 1965.
- O'BRIEN T.P.; MCCYLLY, M.E. **The study of plant structure: principles and selected methods**. Melbourne: Termarcaphi PTY. LTD, 1981.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCYLLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Vienna, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.
- OLIVEIRA, A.B.; MENDONÇA, M.S.; ARAÚJO, M.G.P. Aspectos anatômicos do embrião e desenvolvimento inicial de *Oenocarpus minor* Mart.: uma palmeira da Amazônia. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 24, n. 1, p. 20-24, 2010.
- OLIVEIRA, N.C.C.; LOPES, P.S.N.; RIBEIRO, L.M.; MERCANDANTE-SIMÕES, M.O.; OLIVEIRA, L.A.A.; SILVÉRIO, F.O. Seed structure, germination, and reserve mobilization in *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, Germany, v. 27, n. 6, p. 1633-1645, 2013.



- PANZA, V.; LÁINEZ, V.; MALDONADO, S. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 145, n. 4, p. 445-453, 2004.
- PEARSE, A.G.E. **Histochemistry: theoretical and applied**. London: Churchill, 1972.
- QUIROGA, Y.M.C.; GÓMEZ, M.S.H.; LARES, M. Componentes Bioactivos del Asai (*Euterpe oleracea* Mart. y *Euterpe precatoria* Mart.) y su efecto sobre la salud. **Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica**, Venezuela, v. 36, n. 3, pp. 58-66, 2017.
- RIBEIRO, L.M.; OLIVEIRA, D.M.T.; GARCIA, Q.S. Structural evaluations of zygotic embryos and seedlings of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) during *in vitro* germination. **Trees**, Germany, v. 26, n. 3, p. 851-863, 2012.
- RODRIGUES, J.K.; MENDONÇA, M.S.; GENTIL, D.F.O. Aspectos biométricos, morfoanatômicos e histoquímicos do pirênio de *Bactris maraja* (Arecaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 1, p. 075-085, 2015.
- SILVA, R.S.; RIBEIRO, L.M.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; NUNES, Y.R.F.; LOPES, P.S.N. Seed structure and germination in buriti (*Mauritia flexuosa*) - the swamp palm. **Flora**, Amsterdam, v. 209, n. 11, p. 674-685, 2014.
- VIDAL, B.C. Dichroism in collagen bundles stained with xyloidine-Ponceau 2R. **Annales d'Histochimie**, Paris, v. 15, n. 4, p. 289-296, 1970.
- YAMAGUCHI, K.K.L.; Pereira, L.F.R.; Lamarão, C.V.; Lima, E.S.; Veiga-Junior, V.F. Review Amazon acai: chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, Netherlands, v. 179, n. 15, p. 137-151, 2015.