



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**  
**MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI - MPEG**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS,**  
**BOTÂNICA TROPICAL**

**OLÍVIA DOMINGUES RIBEIRO**

**MORFOANATOMIA DE SEMENTES E MORFOMETRIA DE FRUTOS,  
PLÂNTULAS E DO DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL, ASSOCIADOS AO  
VIGOR EM CLONES DE *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh**

**BELÉM**

**2018**

**OLÍVIA DOMINGUES RIBEIRO**

**MORFOANATOMIA DE SEMENTES E MORFOMETRIA DE FRUTOS,  
PLÂNTULAS E DO DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL, ASSOCIADOS AO  
VIGOR EM CLONES DE *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de mestrado em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel.

Co-orientadora: Dra. Walnice Maria Oliveira do Nascimento

**BELÉM**

**2018**

---

Ribeiro, Olívia Domingues

Morfoanatomia de sementes e morfometria de frutos, plântulas e do desenvolvimento pós-seminal, associados ao vigor em clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh / Olívia Domingues Ribeiro. – Belém, 2018.

64 f.

Mestrado (Ciências Biológicas) – Museu Paraense Emílio Goeldi, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2018.

Orientadora: Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel.

1. Myrtaceae – Myrtle family 2. *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh  
3. Variações morfométricas – Sementes I. Gurgel, Ely Simone Cajueiro (orient.) II. Título.

**CDD** – 583.765

---

Bibliotecária-Documentalista: Letícia Lima de Sousa – CRB2/1549

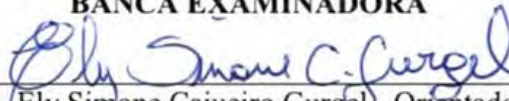
**OLÍVIA DOMINGUES RIBEIRO**

**MORFOANATOMIA DE SEMENTES E MORFOMETRIA DE FRUTOS,  
PLÂNTULAS E DO DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL, ASSOCIADOS AO  
VIGOR EM CLONES DE *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de mestrado em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de mestre.  
Orientadora: Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel.

Data de aprovação: Belém, 22 de fevereiro de 2018

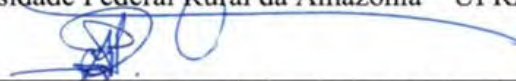
**BANCA EXAMINADORA**



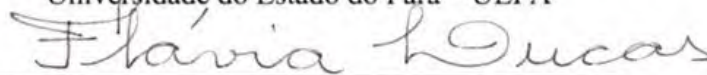
Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel - Orientadora  
Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG



Profª. Dra. Dênora Gomes de Araujo - 1º Examinador  
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA



Profº. Dr. Alessandro Silva do Rosário - 2º Examinador  
Universidade do Estado do Pará – UEPA



Profª. Dra. Flávia Cristina Araújo Lucas - 3º Examinador  
Universidade Estadual do Pará – UEPA

Profº. Dr. João Ubiratan Moreira dos Santos - Suplente  
Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG

A Deus, pela sua misericórdia;

A minha mãe Síria, pelo amor incondicional;

Ao meu esposo Arles e ao meu filho Heitor,  
pela convivência e amor recíproco.

Minha gratidão e reconhecimento a quem  
esteve comigo neste período de estudos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todo amor e amparo de todas as horas. A Nossa Senhora de Nazaré, mãe imaculada por sempre interceder por mim junto ao seu filho Jesus.

A toda minha família, meu Pai Olindo, meus irmãos Olinda, Júnior e Odisséia, pela ajuda em todos os aspectos e pelo constante incentivo no decorrer dessa caminhada. Ao meu sobrinho e afilhado Ulysses ao qual amo como filho. Agradecimento especial a minha mãe Síria, quem sempre me incentivou e se dedicou à minha educação, estando presente desde o início dessa caminhada me auxiliando nos cuidados com meu filho.

Ao meu esposo Arles, por todo o amor, parceria, paciência e companheirismo. Nunca mediu esforços para me ajudar a realizar os meus sonhos. Auxiliou-me em todas as etapas desse trabalho. Pessoa sem igual que me acompanha há muitos anos. Amo-te.

Ao meu pequeno Heitor, filho amado, minha inspiração diária por todo carinho e amor recebido. Sua existência é a razão por qual nunca desistirei. Amor incondicional, imensurável e inabalável.

À Dra. Walnice Maria Oliveira do Nascimento minha primeira orientadora, atual co-orientadora por me apresentar a pesquisa e pela oportunidade de me inserir em seus projetos para realização desse trabalho. Por suas sugestões sempre muito pertinentes, pela inspiração profissional e por sempre ter confiado em mim.

À Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel pela orientação, pelo seu companheirismo, amizade, inspiração, por sempre incentivar o meu trabalho, pelas oportunidades oferecidas e, principalmente, pela valiosa contribuição ao meu aprendizado. Meu muito obrigada.

A equipe do Laboratório de Fruticultura da Embrapa Amazônia Oriental, em especial aos técnicos, Roberto, Augusto e Álvaro que sempre se disponibilizaram a me ajudar nas coletas de campo, caracterização dos frutos, na instalação e condução dos experimentos e pela amizade.

Aos amigos do Laboratório de sementes do Museu Paraense Emílio Goeldi. Em especial a Mônica Falcão pelo auxílio na caracterização morfologia e confecção das pranchas para os artigos e a Suzana Marques por ter me auxiliado nas análises de MEV e por estar sempre disposta a sanar minhas dúvidas em anatomia. A Natália, Thiara, Thiago, Suzane e Cleidianne, pela amizade e convívio harmonioso e pelas trocas de experiências.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação PPGBot/2016, pela amizade.

Aos Professores, à Secretária Larissa do Programa de Pós-Graduação, ao Secretário Anderson de Botânica e aos demais funcionários do MPEG, que de alguma forma contribuíram.

À Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, a Embrapa Amazônia Oriental e ao Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG, pela oportunidade de aprimorar minha formação acadêmica.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

**Meus sinceros agradecimentos.**

## RESUMO

O camu-camu ocorre espontaneamente em toda a bacia amazônica de solos férteis a paupérrimos. Possui uma ampla plasticidade adaptativa. É uma frutífera em incipiente processo de domesticação e adaptação à terra firme. Possui largo potencial econômico. Auxilia na economia dos habitantes rurais, seu cultivo contribui para amenizar as perdas econômicas ocorridas em função das inundações. É conhecido como o fruto mais rico em vitamina C. Frutos de plantas nativas apresentam desuniformidades nos aspectos vegetativos e reprodutivos. Variações morfométricas são indicadores importantes da variabilidade genética exploradas em programas de melhoramento genético. A biometria é um importante instrumento para detectar variação genética de populações de uma mesma espécie e as relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais. A descrição dos aspectos morfológicos de sementes e plântulas é essencial, pois podem auxiliar no manejo, conservação e no desenvolvimento de técnicas eficientes para a produção de mudas. Para as Myrtaceae os estudos anatômicos e histoquímicos têm sido realizados com alguma ênfase para culturas de importância econômica. Neste contexto objetivou-se descrever frutos, as estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e as plântulas, descrever a anatomia e identificar o principal composto de armazenamento das sementes, além de avaliar a qualidade física e fisiológica das sementes em clones do Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental. Foram avaliados cinco clones de camucamuzeiro quanto às características morfológicas, biométricas, anatômicas e histoquímicas. O fruto é uma baga globosa, simples, carnosa. As sementes são exalbuminosas, apresentam cotilédones carnosos, crassos, soldados, reniformes, o embrião é eugenóide, com poliembriônia. Micrópila, rafe e lente são imperceptíveis. Germinação criptocotiledonar hipógea. A plântula possui sistema radicular pivotante, hipocótilo indiferenciado, epicótilo cilíndrico e alongado. Os eófilos são simples, opostos ou em menor frequência verticilados. O tegumento externo apresenta epiderme composta por uma camada de células de formato tabular, ricas em conteúdo fenólico, pectinas, alcalóides e terpenos. Os cotilédones possuem epiderme unisseriada e parênquima formado por células poliédricas com uma grande concentração de grãos de amido e feixes vasculares dispersos, apresenta alcalóides, idioblastos com conteúdo fenólico, lipídio e proteínas. O eixo embrionário possui protoderme com células cubóides, justapostas, paredes delgadas e com núcleo conspícuo. Existe ampla variabilidade biométrica entre os clones estudados configurando assim um elevado potencial genético. Os metabólitos secundários presentes na espécie estão localizados principalmente no tegumento. Essa informação pode auxiliar no isolamento dessas substâncias para estudos posteriores.

**Palavras chave:** Amazônia. Histoquímica. Melhoramento genético. Morfoanatomia de sementes. Metabólitos secundários. Variabilidade fenotípica.

## ABSTRACT

Camu-camu occurs spontaneously throughout the Amazon Basin from fertile to poor soil. It has a wide adaptive plasticity. It is a fruitful in incipient process of domestication and adaptation to terra firma. It has a large economic potential. It assists in the economy of the rural inhabitants, its cultivation contributes to ameliorate the economic losses occurred due to the floods. It is known as the fruit richest in vitamin C. Fruits of native plants present disparities in vegetative and reproductive aspects. Morphometric variations are important indicators of genetic variability exploited in breeding programs. Biometrics is an important tool to detect genetic variation of populations of the same species and the relationships between this variability and environmental factors. The description of the morphological aspects of seeds and seedlings is essential, since they can help in the management, conservation and development of efficient techniques for the production of seedlings. For Myrtaceae, anatomical and histochemical studies have been performed with some emphasis on economically important cultures. The aim of this study was to describe fruits, the structures present in the stages of post-seminal development and seedlings, to describe the anatomy and to identify the main seed storage compound, as well as to evaluate the physical and physiological quality of the seeds in clones of Banco Ativo of Germplasm of Camucamuzeiro of Embrapa Amazônia Oriental. Five clones of camucamuzeiro were evaluated for morphological, biometric, anatomical and histochemical characteristics. The fruit is a globose, simple, fleshy berry. The seeds are exalbuminous, have fleshy cotyledons, crassos, soldiers, reniformes, the embryo is eugenoid, with polyembryony. Micropyle, raphe and lens are imperceptible. Germination cryptocoleonar hypogea. The seedling has a pivoting radicular system, undifferentiated hypocotyl, cylindrical and elongated epicotyl. The eofilos are simple, opposite or less frequently verticillate. The outer tegument presents epidermis composed of a layer of cells of tabular format, rich in phenolic content, pectins, alkaloids and terpenes. The cotyledons have uniseriate epidermis and parenchyma formed by polyhedral cells with a high concentration of starch grains and dispersed vascular bundles, presents alkaloids, idioblasts with phenolic content, lipids and proteins. The embryonic axis has a protoderm with cuboid cells, juxtaposed, thin walls and conspicuous nuclei. There is ample biometric variability among the studied clones thus configuring a high genetic potential. The secondary metabolites present in the species are located principally in the integument. This information can aid in the isolation of these substances for further studies.

**Keywords:** Amazon. Histochemistry. Genetical enhancement. Seed morphoanatomy. Secondary metabolites. Phenotypic variability.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### 2. Camu-camu: morfometria do fruto, semente e o vigor

**Tabela 1.** Periodicidade, em dias, da formação das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e da plântula dos cinco clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

**Tabela 2.** Valores médios para características biométricas em frutos de cinco clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

**Tabela 3.** Valores médios para características biométricas em sementes de cinco clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

**Tabela 4.** Dia para o início da emergência de plântulas (DIE), germinação (G), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de germinação (TMG), comprimento do epicótilo (CE), comprimento da raiz primária (CRP), diâmetro do epicótilo (DE), diâmetro do coleto (Dcol), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) em clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh aos 75 dias.

**Figura 1.** Morfologia do fruto e das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: A, fruto inteiro; B, detalhe do epicarpo; C, fruto em secção transversal; D, fruto e semente em secção transversal; E, semente reniforme; F, hilo oblongo; G, tegumento externamente; H, tegumento internamente; I, superfície dos cotilédones; J, protuberância nos cotilédones; K, secção transversal evidenciando a soldadura dos cotilédones, em que: bh-borda hilar, dc-descamação, dp-depressões dos cotilédones, ep-epicarpo, fn-funículo, hi-hilo, le-lenticelas, ls-linha de soldadura, pb-protuberância, pp-polpa, se-semente, teg-tegumento. Escalas: A e C: 1 cm; B, D, F, I e J: 2 mm; E: 2cm; G e K: 1mm e H: 50µm (Autora das imagens: Olívia Ribeiro).....41

**Figura 2.** Etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: A, protrusão da raiz principal; B, raiz principal alongada; C, surgimento das raízes laterais e catafilos; D, epicótilo alongado com surgimento dos eofilos; E, expansão dos eofilos; F, primeiros pares de eofilos expandidos; G, filotaxia oposta; H, filotaxia verticilada, em que: ct-catafilos, ctf-catafilos fotossintetizantes, eoe-eofilo expandido, eof-eofilo fechado, ep-epicótilo, fta-filotaxia oposta, ftv-filotaxia verticilada, rl-raiz lateral, teg-tegumento (Autor da ilustração: Carlos Alvarés).....42

**Figura 3.** Detalhes das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântula de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: A, poliembrionia; B, fissura na raiz principal; C, hipocótilo reduzido; D, epicótilo estriado; E, catafilo; F, catafilo fotossintetizante; G, estípulas e pulvino; H, face adaxial do eofilo; I, face abaxial do eofilo, em que: ct- catafilos, ctf- catafilos fotossintetizantes, ep- epicótilo, est- estrias, etp- estípula, gm- gemas, hp- hipocótilo reduzido, np- nervura primária, ns- nervura secundária, pul- pulvino, rz- raiz, fs- fissura, rl- raiz lateral, tri- tricomas. Escalas: A: 2cm; C, E, F, G e I: 1 mm; B, D e H: 2 mm (Autora: Olívia Ribeiro).....43

### 3. Anatomia e histoquímica de sementes de camu-camu

**Figura 1.** Tegumento de sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh em secções longitudinais fig 1A e 1C e secção transversal fig 1B em MEV e fig 1D-I em secções transversais em microscopia eletrônica de luz. 1A-superfície externa do tegumento, 1B-parênquima subepidérmico do tegumento, 1C-tegumento interno, 1D-tegumento lignificado, 1E-tegumento sem coloração, 1F-reação positiva para compostos fenólicos, 1G-reação positiva para pectinas, 1H-reação positiva para lipídios totais, 1I-reação positiva para terpenos. Legenda: cc-camadas de células; ce-células espessadas; cl-camada lipídica; cp-células paliçádicas; ct-células tabulares; ecf-estrato com compostos fenólicos; ep-epitélio; et-estrato com terpenos; lu-lúmen; ma-mesocarpo aderido; tg-tegumento; tl-tegumento lignificado; me- mesofilo. Barra: 1A-D-50µm; 1E; 1G; 1I-100µm; 1F-20µm e 1H-30µm.....61

**Figura 2.** Cotilédones de sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh em secções longitudinais em MEV, fig 2A, 2B e 2I e em microscopia eletrônica de luz, fig. 2D, 2G e 2Q secções longitudinais, as demais são secções transversais. 2A-região da protuberância, 2B-detalle do cavidade secretora da protuberância, 2C-mesofilo cotiledonar sem reagente, 2D-epiderme unisseriada, 2E-detalle do lúmen, 2F-detalle do exsudado de alcaloide no lúmen, 2G-feixes vasculares do mesofilo cotiledonar, 2H-aspécto geral do eixo embrionário, 2I-grãos de amidos nos amiloplastos, 2J-reação positiva para o teste lugol, 2K-idioblastos com terpeno no mesofilo cotiledonar, 2L-ducto secretor com compostos fenólicos no mesofilo cotiledonar, 2M-mesofilo cotiledonar com idioblastos fenólicos, 2N-reação positiva para vermelho de rutênio, 2O-gotículas lipídicas no mesofilo cotiledonar e na epiderme interna dos cotilédones, 2P-reação positiva para alcaloides no mesofilo cotiledonar, 2Q-reação positiva para proteínas no mesofilo cotiledonar. Legenda: al- alcaloide; am-amido; cf-compostos fenólicos;

cs-cavidade secretorac; ee-eixo embrionário; ep-epitélio; epc-epiderme cotiledonar; epi-epiderme interna dos cotilédones; fv-feixe vascular; gl-gotículas lipídicas; ida-idioblastos com alcaloides; idf-idioblastos fenólicos; lu-lúmen; mec-mesofilo cotiledonar; pc-parede celular. Barra: 2B-20µm; 2I- 30µm; 2A, 2E, 2F, 2L, 2J, 2N, 2P -50µm e 2D, 2C, 2G, 2H, 2M, 2K, 2O, 2Q-100µm .....62

## SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO .....	12
REFERÊNCIAS .....	16
2. Camu-camu: morfometria do fruto, semente e o vigor .....	18
Introdução .....	20
Material e Métodos .....	23
Resultados e Discussão .....	26
Conclusão .....	34
Agradecimentos .....	34
Referências .....	35
3. Anatomia e histoquímica de sementes de camu-camu .....	46
RESUMO .....	48
INTRODUÇÃO .....	49
MATERIAL E MÉTODOS .....	50
RESULTADOS .....	52
DISCUSSÃO .....	54
CONCLUSÕES .....	56
AGRADECIMENTOS .....	56
REFERÊNCIAS .....	56
4. CONCLUSÕES GERAIS .....	64

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Na região amazônica existem numerosas espécies de plantas com potencial econômico, dentre as quais, *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (NASCIMENTO et al., 2013). É considerada uma espécie que pertence a biodiversidade amazônica que transcendeu o uso local e entrou em um nicho do mercado internacional com implicações de diversa natureza, principalmente devido à preferência por produtos naturais (IIAP, 2001). Nas regiões produtoras sua comercialização é feita em pequena escala nas feiras, em grande parte na forma de polpa congelada (YUYAMA, 2011). No entanto, também está sendo introduzida nos mercados globais. Sua polpa pode ser encontrada em países da Europa e nos EUA, na forma liofilizada e congelada (ITAURAN et al., 2002).

*M. dubia* é originário da região amazônica, ocorre nas margens de rios e lagos em toda bacia amazônica. É distribuído na região central do Pará ao médio alto Rio Amazonas até a parte ocidental do Peru (ITAURAM et al., 2002). O camucamuzeiro ocorre em solos férteis das várzeas até em solos paupérrimos de praias de areia branca. Possui uma ampla plasticidade de adaptação as diferentes regiões, devido a isso, existe uma ampla variabilidade genética nas plantas (YUYAMA, 2011). É mais conhecido como camu-camu em vários países, embora também seja conhecido como camo-camo no Perú, caçari e araçá-d'água no Brasil, guayabito e limoncillo na Venezuela e mitú na Colômbia (RODRIGUES et al., 2001, DOSTERT et al., 2009).

O camu-camu tem um valor inestimável para a economia dos habitantes rurais, seu cultivo contribui para amenizar as perdas econômicas durante as inundações, pois seus frutos amadurecem no período de enchente dos rios, neste os pescadores ficam sem trabalho e utilizam suas embarcações para a coleta dos frutos e venda nas fábricas de polpas. Por ser uma cultura perene o camucamuzeiro oferece menos riscos para agricultores e ribeirinhos, pois os mesmos deixam de trabalhar com culturas temporárias (IIAP, 2001, YUYAMA, 2011). O fruto é uma fonte de alimento pra muitas espécies de peixes e populações ribeirinhas, que utilizam diversas partes da planta para preparos medicinais como licores e infusões para reumatismo, diarreia, dor de cabeça, febre entre outros (IIAP, 2001, MACO, 2002).

*Myrciaria dubia* é conhecida como o fruto mais rico em vitamina C, que varia de 800 a 6.100mg/100g de polpa, possui uma alta estabilidade, isto é, tem baixa taxa de deterioração do ácido ascórbico (YUYAMA, 2011). Além disso, é uma boa fonte de potássio, ferro, cálcio e fósforo (ZAPATA; DUFOUR, 1993). Possui diferentes compostos bioativos como

compostos fenólicos e carotenoides. Também é considerado coadjuvante na eliminação de radicais livres, proporcionando retardamento no envelhecimento. Constitui matéria-prima para a indústria de cosméticos, química, farmacológica, conservante de alimentos e elaboração de bebidas gasosas (VILLACHICA, 1996, CORREA, 2000, AKTER et al., 2011).

No Brasil, ainda há carência de pesquisas que proporcionem o conhecimento das espécies nativas, principalmente em estádios iniciais de desenvolvimento (LEONHARDT et al., 2008). *M. dubia* está inserida neste contexto, pois seus aspectos básicos da biologia são desconhecidos ou pouco estudados (BARDALES et al., 2014).

Para Myrtaceae, os estudos anatômicos e histoquímicos têm sido realizado com alguma ênfase para culturas de importância econômica (JUSTO et al., 2007). A análise anatômica certamente permite uma investigação ainda mais aprofundada das espécies e a histoquímica tem o objetivo de localizar *in situ* os principais grupos químicos e determinar a natureza das substâncias presentes nos tecidos e sua localização (FIGUEIREDO et al., 2007, GOGOSZ et al., 2010). Em sementes são relevantes para a compreensão de vários fenômenos ligados ao comportamento das espécies, fundamentais no conhecimento dos processos fisiológicos das plantas (GARCIA et al., 2006). No entanto, para o camu-camu essas análises ainda são insatisfatoriamente estudadas.

Frutos de espécies nativas, apresentam desuniformidades nos aspectos vegetativos e reprodutivos, por isso, precisam ser estudados para que sejam instituídos critérios de seleção morfológico e biométrico como cor, tamanho e espessura (BORGES et al., 2010). Variações de morfologia e biometria são indicadores importantes da variabilidade genética para serem exploradas em programas de melhoramento genético (CLEMENT, 2001).

Marques et al. (2012), ressaltaram que o camu-camu é uma espécie frutífera nativa de áreas de várzea da Amazônia, em incipiente processo de domesticação e adaptação à terra firme. Os mesmos afirmam que o uso de metodologias eficientes que colaborem para a eficácia da seleção é fundamental, por constituírem pontos fundamentais ao desenvolvimento de programas de melhoramento genético, possibilitando a recomendação de cultivares de camucamuzeiro com grande potencial genético para produção e com frutos de características agronômicas desejáveis.

A biometria de frutos e sementes são importantes instrumentos para detectar variação genética de populações de uma mesma espécie e as relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais (GONÇALVES et al., 2013). A descrição dos aspectos morfológicos de sementes e plântulas são essenciais, pois podem auxiliar nos estudos de regeneração natural do ciclo vegetativo, manejo, conservação e até mesmo no desenvolvimento de técnicas

eficientes na produção de mudas (BATISTA et al., 2011). O uso de sementes de qualidade é de grande importância para a propagação e produção de mudas, e o teste de germinação é o principal parâmetro de avaliação da qualidade fisiológica das sementes (MARTINS et al., 2008).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi caracterizar a morfologia dos frutos, sementes, estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas, bem como descrever a anatomia e identificar a principal substância de reserva das sementes, além de avaliar a qualidade física e fisiológica das sementes em clones do Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará.

A dissertação está estruturada em: 1. Contextualização com revisão da literatura;

2. Artigo 1 “**Camu-camu: morfometria do fruto, da semente e o vigor**”, abrange dados morfométricos e teste de vigor. Desenvolvido com o objetivo de avaliar a qualidade física e fisiológicas das sementes de cinco clones de camu-camu, para submissão a Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira - PAB.

3. Artigo 2 “**Anatomia e histoquímica de sementes de camu-camu**”, uma vez que são escassos os estudos anatômicos e histoquímicos de sementes de camu-camu, cuja principal composição química da semente não está satisfatoriamente estudada, para submissão a revista Acta Amazônica.

4. Considerações finais.

A formatação dos artigos seguem as normas das revistas selecionadas, no entanto, numerações e margens das páginas estão padronizadas de acordo com as normas de elaboração da dissertação do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural da Amazônia.

Para efeito de delimitação do tema o primeiro artigo apresenta uma abordagem voltada para a morfologia de estruturas vegetativas e o segundo trata sobre anatomia e histoquímica de sementes.



## REFERÊNCIAS

- AKTER, M. S.; OH, S.; EUN, J. B.; AHMED, M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**, v.44, p.1728-1732, 2011.
- BARDALES, A. E. M.; PISCO, E. G. C.; FLORES, A. J. F.; MASHACURI, N. R.; RUÍZ, M. C.; CORREA, S. A. I.; GÓMEZ, J.C.C. Semillas y plántulas de *Myrciaria dubia* “camu-camu”: biometría, germinación y crecimiento inicial. **Scientia Agropecuaria** v.5, p.85-92, 2014.
- BATISTA, G. S.; COSTA, R. S; GIMENES, R.; PIVETTA, K. F. L.; MÔRO, F. V. Aspectos morfológicos dos diásporos e das plântulas de *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc - *Areaceae Comunicata Scientiae*, v.2, n.3, p.170-176, 2011.
- BORGES, K. C. D. F.; SANTANA, D. G. D. ; MELO, B. D.; SANTOS, C. M. D. Rendimento de polpa e morfometria de frutos e sementes de pitangueira-do-cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 471-478, 2010.
- CLEMENT, C. R. Melhoramento de espécies nativas. In: Nass, L. L.; Valois, A. C. C.; Melo, I. S.; Valadares-Inglis, M. C. (Ed) **Recursos genéticos & melhoramento-plantas**. Rondonópolis: Editora Fundação MT, 2001. p.423-441.
- CORREA, S. I. **Cultivo de camu-camu *Myrciaria dubia* H.B.K. na região de Loreto**. Iquitos : INIA, 2000. 32 p.
- FIGUEIREDO, A. C. S.; BARROSO, J. M. G.; PEDRO, L. M. G. ASCENSÃO, L. **Histoquímica e Citoquímica em Plantas: princípios e protocolos**. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal. 2007. 68p.
- GARCIA, L. C.; NOGUEIRA, A. C.; ALQUINI, Y. Aspectos morfo-anatômicos de sementes de *Podocarpus lambertii* Klotz. e *Podocarpus sellowii* klotz.- Podocarpaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p.129-134, 2006.
- GOGOSZ, A. M.; COSMO, N. L.; BONA, C.; SOUZA, L. A. de. Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (*Myrtaceae*). **Acta Botanica Brasilica**, v.24, n.3, p.613-623, 2010.
- GONÇALVES, L. G. V.; ANDRADE, F. R.; MARIMON JUNIOR, B. H.; SCHOSSLER, T. R.; LENZA, E.; MARIMON, B. S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.36, n.1, p.36-40, 2013.
- IIAP. **Sistema de Producción de Camu-camu en Restinga. Programa de Ecosistemas terrestres**. Proyecto Bioexport. Camu-camu. 2001. 60p.
- ITAURAN, S. R.; MOTA, M. G. C.; CORRÊA, M. L. P. **Recomendações para o Cultivo do Camucamuzeiro no estado do Pará**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 9 p.
- JUSTO, C. F.; ALVARENGA, A. A de.; ALVES. E.; GUIMARÃES. R. M.; Strassburg. R.C. Efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre a micromorfologia de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. **Acta Botanica Brasilica**, v.21, n.3, p.539-551, 2007.
- LEONHARDT, C.; BUENO, O. L.; CALIL, A. C.; BUSNELLO, A.; ROSA, A. Morfologia e desenvolvimento de plântulas de 29 espécies arbóreas nativas da área da Bacia Hidrográfica do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia Série Botânica**, v.63, n.1, p.5-14, 2008.

- MACO, G. **Germinación y desarrollo inicial de *Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh y *Myrciaria sp.* con relación al tamaño de semillas y tipos de sustratos.** Monografía (Graduação em Biología) - Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Perú, 2002.
- MARQUES, D. N.; OLIVEIRA, M. S. P. DE; NASCIMENTO, W. M. O. do. Avaliação de caracteres de produção de frutos em clones de camucamuzeiro nas condições de terra firme em Belém - Pará In: **Congresso Nacional de Recurso Genéticos.** 2012. Belém, PA.
- MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de barbatimão ((*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae)). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.32, n.4, p.633-639, 2008.
- NASCIMENTO, O. V; BOLETI, A. P.; YUYAMA, L. K.; LIMA, E. S. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dúbia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, p.355–363, 2013.
- TROPICOS.ORG. Disponível em <http://www.tropicos.org/NameSynonyms.aspx?nameid=22103034>). Acesso em: 08 de janeiro de 2018.
- VILLACHICA, H. EL. **Cultivo del camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) en la Amazônia Peruana.** Tratado de Cooperacion Amazônica. Lima-Peru. 1996. 95p.
- YUYAMA, K. A. Cultura do camu-camu no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.335-690, jun. 2011.
- ZAPATA, S. M; DUFOUR, J. P. Camu-camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh chemical composition of fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.61, p.349-351, 1993.

## 2. Camu-camu: morfometria do fruto, semente e o vigor

Manuscrito a ser submetido para publicação na Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira - PAB



## **Camu-camu: morfometria do fruto, semente e o vigor**

**Olívia Domingues Ribeiro<sup>1</sup>, Ely Simone Cajueiro Gurgel<sup>1</sup>, Walnice Maria Oliveira do Nascimento<sup>2</sup> e Mônica Falcão-da-Silva<sup>1</sup>**

<sup>(1)</sup> Museu Paraense Emílio Goeldi. Coordenação de Botânica. Av. Perimetral 1901, 66077-830, Bairro Marco, Belém, Pará, Brasil. E-mail: olivia\_dr83@yahoo.com.br, escgurgel@museu-goeldi.br, monikafs.biobot@yahoo.com.br. <sup>(2)</sup> Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fruticultura. Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/nº, 66095-903, Bairro Marco, Belém, Pará, Brasil. E-mail: walnice.nascimento@embrapa.br

Resumo - *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (Myrtaceae) é nativa da Amazônia, considerado o superfruto utilizado pela indústria farmacêutica e cosmética por ser fonte reconhecida de vitamina C. Objetivou-se descrever frutos, sementes, estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas, além de avaliar a qualidade física e fisiológica das sementes de cinco clones de camucamuzeiro do Banco Ativo de Germoplasma, da Embrapa Amazônia Oriental - Belém - Pará, utilizando literatura e técnicas usuais para a seleção de clones com características desejáveis para cruzamentos, visando a produção de frutos com maior rendimento de polpa. O fruto é uma baga globosa, simples, carnosa, indeiscente e polispérmica. Sementes exalbuminosas, estenospérmicas, reniformes, poliembriônicas. Micrópila, rafe e lente são imperceptíveis. Embrião eugenóide. Cotilédones carnosos, crassos, volumosos, soldados. Germinação criptocotiledonar hipógea. A plântula possui sistema radicular pivotante, raiz principal axial cilíndrica, levemente sinuosa, sub-herbácea, amarelada, crassa, glabra. O hipocótilo indiferenciado a pouco evidenciado. O epicótilo é cilíndrico, alongado, reto, herbáceo, estriado. Os eofilos são simples, opostos ou em menor

frequência verticilados. Existe ampla variabilidade biométrica entre os clones avaliados com elevado potencial genéticos. A espécie não apresenta plasticidade morfológica.

Termos para indexação: Amazônia, biometria da germinação, melhoramento genético, *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, seleção

### **Camu-camu: morphometry of fruit, seed and force**

Abstract - *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (Myrtaceae) is native to the Amazon, considered the superfruit used by the pharmaceutical and cosmetics industry as a recognized source of vitamin C. The most relevant characters are related to fruit production with higher pulp yield. The objective of this study was to describe fruits, seeds, structures present in the post-seminal development stages and seedlings, as well as to evaluate the physical and physiological quality of the seeds of five clones of camu-camu of the Active Germplasm Bank, Embrapa Amazônia Oriental - Belém - Pará, using literature and usual techniques to select clones with characteristics desirable for crosses. The fruit is a globose berry, simple, fleshy, indiscriminate and polyspermic. Seeds exalbuminous, stenospermic, reniform, polyembryonic. Micropyle, raphe and lens are imperceptible. Embryo eugenode. Fleshy cotyledons, crass, bulky, welded. Germination cryptocoleonar hypogea. The seedling has a pivotal root system, axial main cylindrical, slightly sinuous, sub-herbaceous, yellowish, crassa, glabrous. The undifferentiated hypocotyl is poorly evidenced. The epicotyl is cylindrical, elongated, straight, herbaceous, striated. The eofilos are simple, opposite or less frequently verticillate. There is broad biometric variability among clones evaluated with high genetic potency. The species does not exhibit morphological plasticity.

Index terms: Amazonia, germination biometry, genetic improvement, *Myrciaria dubia*, selection, phenotypic variability

### **Introdução**

*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (camu-camu), pertencente à família Myrtaceae, é nativa nas várzeas e margens dos rios e lagos da Amazônia peruana e brasileira, onde se encontra amplamente distribuída (Riva Ruiz, 1994). Apesar de pouco conhecido pela maioria da população brasileira, o fruto possui elevada concentração de ácido ascórbico com cerca de 6.000 mg para 100 gramas de polpa de fruto (Yuyama, 2002). Este fato tem despertado

interesse de diversos setores indústrias por constituir matéria-prima para a indústria de fármacos, cosméticos, conservantes naturais e produtos alimentícios como suco concentrado, geléia, bebidas gasosas, sorvetes, vinhos, além da sua utilização na área de corantes naturais em função da pigmentação (antocianina) encontrada em grandes concentrações no seu epicarpo (Correa, 2000; Yuyama, 2002).

O camucamuzeiro é uma espécie considerada não domesticada, pois a produção de seus frutos ainda é na maioria extrativista e utilizada apenas por populações indígenas e ribeirinhas no Peru e Brasil, isto é, a partir de plantas crescendo naturalmente nas margens dos rios e lagos ou cultivado em pequenas áreas de terra firme principalmente no Peru (Salvador Rojas et al., 2011).

Os frutos de camu-camu são excelentes fontes de diferentes bioativos compostos como vitamina C, compostos fenólicos e carotenoides, apresentam alta capacidade antioxidante quando comparado com tucumã, uxi, araçá-boi e cambuci (Gonçalves et al., 2010). Por essa razão podem compor produtos alimentares e retardar ou prevenir várias doenças humanas (Akter et al., 2011). Além disso, a sua produção e o beneficiamento tornam-se alternativa viável ao desenvolvimento regional, como fonte de alimento, e ao agregar valor aos recursos naturais disponíveis na região, melhorando a renda das pequenas comunidades rurais e favorecendo a preservação das espécies nativas (Pinedo et al., 2001; Welter et al., 2011).

No caso do camucamuzeiro, os caracteres avaliados de maior relevância estão relacionados a produção de frutos que proporcionam o maior rendimento de polpa, utilizada para diversos fins, todavia, ainda são poucos os resultados publicados com essa espécie (Nascimento et al., 2014).

A partir do conhecimento das estruturas de frutos e sementes podem-se obter indicações sobre armazenamento e métodos de semeadura, além de fundamentar estudos que visem conhecimentos sobre o processo de germinação, viabilidade e métodos de propagação da

espécie. Fornecem subsídios para diferenciar espécies e caracterizar aspectos ecológicos da planta, como a dispersão, estabelecimento de plântulas e fase da sucessão ecológica (Matheus & Lopes 2007; Rego et al., 2010).

Existem poucos trabalhos que investigam a morfologia das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal da subtribo Eugeniinae. Embora o grupo *Plinia* juntamente com o grupo *Eugenia* estejam classificados na mesma subtribo e compartilham algumas características, tais como embrião do tipo eugenóide, cotilédones carnosos e o hipocótilo vestigial ou inexistente (Landrum & Kawasaki, 1997; Lucas et al., 2007), esse tipo de estudo foi realizado apenas com algumas espécies, como *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVaugh (Anjos & Ferraz, 1999), *Syzygium malaccense* (L.) Merryl et Perry (Costa et al., 2006), *Eugenia rostrifolia* Legr. e *Myrcianthes pungens* (O.Berg) Legr. (Santos et al., 2004).

As informações relacionadas ao desenvolvimento e morfologia das plântulas são essenciais aos viveiristas para auxiliarem no planejamento na produção de mudas (Barbosa & Santiago, 2009).

Para Gusmão et al. (2006), a biometria dos frutos e das sementes fornecem informações para a conservação e exploração dos recursos de valor econômico das espécies, constituem um instrumento importante para detectar a variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie e as relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais, como também em programas de melhoramento genético.

Para o camu-camu, Yuyama et al. (2010), ressaltaram que a quantificação e mensuração da variabilidade genética constitui etapa fundamental para realização de programas de melhoramento com a espécie. Cosmos et al. (2009), enfatizaram a grande relevância da realização de estudos que considerem em conjunto as características morfológicas de frutos e sementes e os estágios iniciais do desenvolvimento das plantas. Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo caracterizar morfometricamente frutos, sementes e

morfologicamente estruturas vegetativas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas de *Myrciaria dubia*, além de avaliar a qualidade física e fisiológica das sementes, em clones do Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental.

### **Material e Métodos**

Para realização do trabalho foram utilizados frutos e sementes provenientes de cinco clones de camucamuzeiro do Banco Ativo de Germoplasma - BAG, localizado no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental (Belém - Pará), sobre as coordenadas geográficas 48°26'45"W e 1°26'31"S, identificados como CPATU (Centro de Pesquisa Agropecuária do Tropicó Uímido): CPATU 1, CPATU 2, CPATU 3, CPATU 6 e CPATU 9, clones adquiridos por reprodução assexuada, credenciados junto ao MMA N.º 035/2010-SECEX-CGEN, pertencentes a um ensaio clonal, constituído de 10 clones de quatro repetições de três plantas em parcelas lineares, delimitadas por bordadura, procedentes de plantas de matrizes selecionadas fenotipicamente de outro BAG de camucamuzeiro instalado em 1994 a partir de mudas formadas de sementes extraídas de frutos coletados em populações nativas do Amazonas e do Pará. A seleção dos cinco clones foi aleatória.

Os frutos foram beneficiados até a completa limpeza das unidades de dispersão. As sementes foram extraídas manualmente por maceração dos frutos em peneira com malha de aço, lavadas em água corrente, eliminando frutos e sementes malformados ou com injúrias mecânicas.

As exsiccatas dos clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh foram incorporadas aos acervos do IAN (Herbário da Embrapa Amazônia Oriental) e do MG (Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi, ambos localizados no município de Belém (PA). CPATU 1: 195382; CPATU 2: 198384; CPATU 3: 195386; CPATU 6: 195388 e CPATU 9: 195390.



Para caracterizar a morfologia de frutos e sementes foram utilizados 30 frutos maduros (epicarpo totalmente roxo), sadios, inteiros, sem deformações e 30 sementes isentas de atrofias, injúrias, ataque de insetos e livres de impurezas, provenientes de três indivíduos de cada clone, (Silva et al., 2016, com adaptação). Para os frutos foram avaliados a morfologia geral, a classificação, coloração do epicarpo na maturação, textura, consistência do pericarpo, deiscência, número e posição das sementes no fruto (Gurgel et al., 2014). Nas sementes foram realizadas secções transversais e longitudinais com lâmina de aço para observação do embrião, bem como para a determinação da sua posição no interior, para as análises externas foram consideradas a consistência, cor e superfície da testa, forma, posição do hilo, lente, micrópila e internamente, espessura e consistência do tégmen do embrião (cotilédones, eixo hipocótilo-radícula), tipo, forma e cor de acordo com Corner (1976). Considerou-se a base da semente a extremidade próxima ao ápice da radícula (Barroso et al., 1999).

Os dados biométricos dos frutos e das sementes foram obtidos a partir de 60 frutos individualmente analisados quanto aos seguintes aspectos: peso (g), comprimento e diâmetro do fruto (cm), espessura do epicarpo (mm), número de sementes por fruto, rendimentos percentuais de epicarpo, polpa e sementes, além do peso, comprimento e diâmetro da semente (Marques et al., 2012; Ribeiro et al., 2012). Para o estabelecimento do peso médio dos frutos e rendimentos percentuais de epicarpo, polpa e sementes, cada parte citada foi pesada em balança digital com precisão de 0,001 gramas (AY120 *Shimadzu*).

Considerou-se diâmetro a porção mais larga e o comprimento do fruto, a mais estreita. A espessura do epicarpo, foi realizada após a abertura transversal dos frutos e da retirada da polpa (Ribeiro et al., 2012), todas as medidas foram determinadas com paquímetro digital de precisão de 0,1mm (General® UltraTech® e Digital Caliper). Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística simples, envolvendo média, máximo, mínimo e desvio padrão (Ribeiro et al., 2012). Utilizou-se o programa Excel/Windows 8.1.

Para as análises morfológicas das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântula foram usados 20 vasos de polipropileno medindo 12,5 cm (diâmetro) x 45,5 cm (profundidade), contendo substrato constituído por areia peneirada e lavada, mais serragem curtida, em proporção volumétrica de 1:1, ambos esterilizados em água fervente por duas horas com temperatura de aproximadamente 180°C. Foram dispostas 10 sementes por vaso, cada uma a 0,5 cm de profundidade, visando descrever diariamente a morfologia das estruturas, presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal, desde o intumescimento da semente até a expansão do eofilo. Para a descrição, foram consideradas apenas as unidades que apresentaram raiz primária, epicótilo e cotilédones normais (Brasil, 2009). Foram consideradas plântulas quando os três pares de eofilos já estavam totalmente formados e expandidos.

Toda a nomenclatura adotada está de acordo com Corner (1976), Riva Ruiz (1994), Barroso et al. (1999), Santos et al. (2004), Anjos & Ferraz (1999), Rêgo et al. (2010), Yuyama et al. (2011), Bardales et al. (2014) e Sousa et al. (2017) que descreveram morfológicamente frutos, sementes, germinação e plântulas de Myrtaceae.

A morfologia externa e interna de frutos e sementes e as características das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântula foram observadas visualmente, quando possível e complementadas com o auxílio de estereomicroscópio (*Leica EZ4D*).

Para a investigação sobre a qualidade física e fisiológica das sementes, foram empregados frutos em completo estágio de maturação. Determinou-se teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , com quatro amostras de dez sementes para cada clone e o peso de mil sementes, ambos seguindo metodologias descritas nas Regras para Análises de Sementes (Brasil, 2009).

Para o teste de germinação foram utilizados o mesmo substrato, as mesmas instalações e condições para descrição das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e da plântula. O delineamento experimental aplicado foi inteiramente casualizado, composto por quatro repetições, com 50 sementes em cada um.

As avaliações do teste de germinação foram realizadas diariamente, durante 75 dias (Brasil, 2013). Foi marcado o dia de início da emergência das plântulas, estas contabilizadas diariamente. Foram consideradas plântulas emersas aquelas que obtiveram o epicotilo acima da superfície do substrato. Ao final do experimento foram calculados a porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TM) e índice de velocidade de emergência (IVE), esse seguindo a fórmula de Maguire (1962).

Para o teste de vigor foram coletados os dados biométricos da altura da plântula (cm), considerada desde a extremidade da raiz primária até o último par de eófilo, o diâmetro do colo (mm) e a massa de matéria seca de plântulas (MMS). As plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e pesadas em balança de precisão 0,001g, desidratadas em estufa de circulação de ar forçado à  $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48 horas, transcorrido este tempo, as mesmas foram pesadas novamente. O cálculo foi obtido através da equação:  $MMS = \sum MPN / n^{\circ} PAM$ , onde MPN é a massa de plântulas normais e PAM são plântulas contidas na amostra. Os dados coletados durante o teste de vigor das sementes foram analisados com auxílio do programa estatístico *software Statistica 13.2* de 2017. Os dados quantitativos das avaliações foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### **Resultados e Discussão**

O fruto maduro é do tipo baga globosa, simples, carnoso, indeiscente, polispérmico, com 1 a 4 sementes por fruto não separadas por septos (Figura 1A). O epicarpo é delgado, brilhante, de vermelho intenso a roxo escuro na maturação, possui lenticelas arredondadas de

coloração mais clara em toda sua superfície (Figura 1B). O mesocarpo (polpa) é transparente/translucido, cítrico, oxida rapidamente (Figura 1C), é indiviso do endocarpo (Figura 1D). Possui funículo longo, esbranquiçado fibroso, delgado, cilíndrico, envolve toda a semente e a polpa (Figura 1C). Essas descrições são semelhantes à de Riva Ruiz (1994), que descreveu o camu-camu como baga globosa com epicarpo liso e brilhante, vermelho escuro até púrpuro ao amadurecer; Yuyama (2011), descreve como globoso - arredondado, contendo de 1 a 4 sementes por fruto; e, Sousa et al. (2017), observaram a emissão de extensões de fibra que se dispersam por toda a polpa com ponto de inserção no hilo.

As sementes de camu-camu são exalbuminosas, estenospermicas, reniformes e poliembriônicas (Figura 1E-3A). A poliembrionia foi estudada por Gurgel (1951) em Myrtaceae que classificou *Myrciaria* com média a baixa porcentagem de poliembrionia (média: espécies com 70 a 40% de poliembrionia e baixa: menor que 40%). Evidência confirmada por Lughadha & Proença (1996).

O tegumento é monocromico, coriáceo, delgado, absorvente, externamente marrom-escuro (Figura 1G) e internamente marrom mais claro (Figura 1H). A região hilar apresenta-se na lateral mais estreita da semente a aproximadamente 90° do ápice da raiz (Figura 1E), oblonga, bem visível, heterócroma, com bordadura proeminente (Figura 1F). Essas características foram observadas por Riva Ruiz (1994), Yuyama et al. (2011) e Sousa et al. (2017), já que, ao descreverem as sementes de camu-camu, observaram o formato reniforme, achatado, cotilédones recobertos por um tecido fino, permeável, absorvente e superfície recoberta por fibras ou lanugem branca rala. Sousa et al. (2017) também descreveram o hilo de tamanho médio, opaco e lateral-ventral.

A micrópila, rafe e lente são imperceptíveis. Foi observada uma protuberância em um dos ápices da semente (Figura 1J), que com a retirada do tegumento fica mais visível, possui formato arredondado mais escuro que os cotilédones e tem aproximadamente 1mm. Anjos &

Ferraz (1999), ao estudarem *Eugenia stipitata* ssp *sororia* McVaugh fizeram a mesma observação, nomeando a protuberância de “zona meristemática”, e a caracterizaram como estrutura unciforme menor que 1 mm, de onde emerge a raiz e o epicótilo. Bardales et al. (2014), indicaram que a protuberância se torna roxa logo antes da emissão da raiz e que essa coloração se deve ao acúmulo de antocianina na região. Os dados aqui obtidos não permitem confirmar essa informação.

O embrião é do tipo eugenóide, desenvolve-se como estrutura homogênea sem delimitações aparentes de suas estruturas principais. Barroso (1991), descreveu o embrião eugenóide globoso a ovóide, crasso, com cotilédones pouco diferenciados e soldados. Santos et al. (2004), observaram o mesmo tipo de embrião para *Eugenia rostrifolia* Legr. e *Myrcianthes pungens* (O. Berg) Legr. embrião, o qual é comum entre as Myrtaceae.

Os cotilédones são carnosos, crassos, volumosos, soldados, amarelo-esverdeado, com pontuações em toda superfície externa, possui depressões de coloração mais escura e com estrias no seu interior, não podem ser separados sem danificá-los (Figura 11-1K). Sousa et al. (2017) descreveram dois cotilédones fundidos, embrião preenchendo todo o volume, em posição axial, composto por uma massa cotiledonar maciça, cobrindo o eixo do hipocótilo. Anjos & Ferraz (1999), observaram em sementes de *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVaugh, uma área de fusão que denominaram “linhas de soldadura” dos cotilédones e, também, ressaltaram que essa soldadura impede a separação dos mesmos sem danificá-los, com os cotilédones parcialmente concrecidos entre si. Esse tipo de cotilédone é característico de embrião conhecido como pseudomonocotiledonar (Flores & Rivera, 1989).

A germinação é criptocotiledonar, hipógea, emergência curvada e, posteriormente, reta. O mesmo tipo de germinação foi observado por Anjos & Ferraz (1999) e Santos et al. (2004), ao analisarem espécies pertencentes as Myrtaceae.

A tabela 1, reúne as descrições das principais estruturas presentes nas etapas da morfologia do desenvolvimento pós-seminal e da plântula dos cinco clones estudados. Após hidratação, a semente intumescer-se aumentando o seu tamanho, o contorno da radícula torna-se mais evidente à medida que se desenvolve, até romper o tegumento na região da protuberância (Figura 2A), no intervalo de 16 a 20 dias após o semeio para os clones avaliados, a raiz principal rompe o tegumento na região basal, com coloração creme, mais espessa na base, afilada e esbranquiçada no ápice, coifa não evidenciada (Figura 2B). Bardales et al. (2014), observaram a ruptura do tegumento pela raiz na protuberância em

*M. dubia* aos 22 dias após a semeadura.

O hipocótilo é indiferenciado ou pouco evidenciado, nota-se apenas uma estrutura de coloração mais escura, crassa e glabra entre a raiz e o epicótilo (Figura 3C). Porém, Bardales et al. (2014), observaram o hipocótilo aos 28 dias após a semeadura com 0,7 cm de comprimento na germinação de sementes de camu-camu. No entanto, em estudos realizados com a subtribo Eugeniinae foi observado o mesmo comportamento de hipocótilo reduzido em sementes com germinação natural, por exemplo *Myrcianthes pungens* (O. Berg.) Lergr. (Santos et al., 2004).

As raízes laterais não concorrem com a principal em comprimento e surgem entre o 18º e o 30º dia, após o semeio entre os clones, formando um conjunto irregular, castanho escuro (Figura 2C). Segundo Bardales et al. (2014), as raízes laterais surgiram apenas aos 30 dias, após a emissão da raiz principal.

O epicótilo é cilíndrico, alongado, reto, herbáceo, estriado, rosado e, posteriormente, verde, coberto por tricomas curtos e hialinos (Figura 2D-3D). Emerge entre 20º e 29º dia, após o semeio entre os clones. Apresenta pares alternos de catafilos (Figura 3E) que despontou no período de 22 a 38 dias após o semeio entre os clones. Os mesmos caducam com o desenvolvimento do epicótilo e, geralmente, o último par é fotossintetizante (Figura

3F), a plântula tem em média de 1 a 4 pares. O epicótilo expôs-se em *Myrceugenia gertii* Landrum, curto, piloso de coloração verde-claro e em *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) O. Berg longo, verde-claro, cilíndrico e coberto por tricomas (Rego et al., 2010). Já em *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVaugh o epicótilo emergiu muito depois da raiz, com emergência reta, lenta e desuniforme, com aproximadamente 50 dias para se iniciar, expressou de 2 a 5 catafilos com atividade fotossintetizante (Anjos & Ferraz, 1999).

Os eofilos, são simples, opostos ou em menor frequência verticilados, com pulvino, proximal, cilíndricos, verde com tricomas ferruginosos (Figura 2 G-H e 3G), base obtusa, ápice acuminado, margem lisa com tricomas somente na face adaxial, mais densos próximos a nervura principal, ocorreram no intervalo de 27 e 50 dias entre os clones; Face adaxial mais escura e brilhante, pinatinérvea, bronquidódroma (Figura 3H-I). Presença de estípulas caducas e gemas axilares (Figura 3G). Anjos & Ferraz (1999), observaram em plântulas de *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVaugh a filotaxia oposta decussada com arquitetura caliciforme, onde cada par de folha que surge tem o crescimento final sempre maior que o anterior. *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) O. Berg e *Myrceugenia gertii* Landrum são simples, pecioladas, peninérveas, membranáceas, forma elíptica, margem inteira, ápice agudo, base acuminada e filotaxia oposta cruzada (Rego et al., 2010). Para *M. dubia* os eofilos surgiram em média aos 28 dias após o semeio e aproximadamente aos 43 dias a plântula já apresentava a raiz e as folhas bem desenvolvidas (Bardales et al., 2014). O aparecimento dos eofilos entre os clones foram semelhantes aos apresentados por Bardales et. (2014). No entanto, a plântula apresentou todas as suas estruturas bem desenvolvidas em média aos 33 dias, isto é, 10 dias a menos que as do estudo citado anteriormente.

A plântula está totalmente formada no intervalo de 38 a 56 dias entre os clones avaliados, possui sistema radicular pivotante, raiz principal axial, cilíndrica, levemente sinuosa, sub-herbácea, amarelada, crassa, glabra, mais espessa na base e afilada no ápice,

possui estrias na base e apresenta fissuras em toda sua extensão (Figura 3B). Até o final do experimento os cotilédones permaneceram envolvidos pelo tegumento e imergido no substrato (Figura 2H).

Considerando os valores médios e o desvio padrão dos cinco clones avaliados, os frutos de camu-camu apresentaram massa de  $5,11 \pm 1,81$  g, com mínimo de 3,58 g e máximo de 8 g (Tabela 2). Os clones CPATU 2 e 6 destacaram-se pela massa em relação às demais, com frutos pesando 8 g e 7,27 g. As médias para o comprimento e diâmetro dos frutos foram de  $2,06 \pm 0,23$  cm e  $2,14 \pm 0,22$  cm, respectivamente, entretanto, foram inferiores aos citados por Riva Ruiz (1994), cujos frutos avaliados tinham, entre 7 g a 22 g. Yuyama (2011), observou frutos com média de 8,5 g de massa e diâmetro 3,8 cm. No trabalho de Nascimento et al. (2013), os frutos tinham média de massa de 11,68 g, comprimento 2,53 cm e diâmetro 2,74 cm e no Chagas et al., (2015), os frutos apresentaram a média 10,15 g e comprimento do fruto 2,38 cm.

A espessura do epicarpo teve média de 0,65 mm e o clone CPATU 3 destacou-se com valor máximo de 1,13 mm, correspondendo a 22,15% do total do fruto e a menor média de sementes por fruto (1,13) (Tabela 2). Mesmo tendo a menor média de massa entre os clones avaliados, o alto valor de espessura do epicarpo e a porcentagem de epicarpo podem ser um requisito de seleção, uma vez que, Maeda (2006) e Correa et al. (2011), afirmaram em seus estudos que o teor de ácido ascórbico no epicarpo é 88% e 66,5% respectivamente, superior aos encontrados na polpa.

O rendimento de polpa dos frutos variou entre 58,53 e 63,67% com média de 60,99% (Tabela 2). O clone CPATU 2 apresentou o maior percentual de polpa e o menor percentual de sementes (13,37%). Esses resultados foram superiores aos de Maeda (2006), que obteve 43,65% de polpa e 28,23% de semente e Chagas et al. (2015), com 55,20% de polpa e 21,80% de semente. Foi inferior apenas aos frutos avaliados por Nascimento et al. (2013), que



obtiveram percentual de polpa superior a 75%. Embora a média de massa dos frutos dos clones avaliados tenha sido inferior às médias apresentadas por outros autores o maior percentual de polpa e o menor percentual de sementes são características desejáveis para um programa de melhoramento genético.

Os dados biométricos das sementes dos cinco clones de camu-camu encontram-se na tabela 3. O clone CPATU 6 sobressaiu-se com as maiores médias, seguido do CPATU 1.

A massa variou entre 0,57 a 1,07 g. Seguindo a classificação de tamanho de sementes feita por Correa et al. (2011), as sementes dos Clones CPATU 3 e 9, são classificadas como sementes médias (0,50 a 0,80 g), e os clones CPATU 1, 2 e 6, como sementes grandes (>0,80 g). Esses valores são semelhantes aos encontrados por Bardales et al. (2014), com média de massa de semente de  $0,52 \pm 0,17$  g e Smiderle et al. (2015) com massa 1,05 g. Para Costa et al. (2006), sementes classificadas como grandes e médias apresentam maiores valores de velocidade de emergência. Carvalho & Nakagawa (1983), citaram que sementes de tamanho grande são mais vigorosas, há melhor nutrição durante o seu desenvolvimento e apresentam embriões bem formados.

Os maiores valores de massa média de 1000 sementes também foram dos clones CPATU 6 (771 g) e o CPATU 1 (710 g). Os valores de números de sementes por quilograma dos clones CPATU 1, 2, 3, 6 e 9 contém aproximadamente, 1.408, 1.706, 1.333, 1.297 e 1.897 sementes respectivamente, valor este superior em massa e inferior em números de unidades de sementes encontrado por Ferreira & Gentil (2003), na qual, a massa variou de 381 a 423 g e o número de sementes por quilograma variou de 2.365 a 2.623 unidades.

O comprimento, o diâmetro e a espessura variaram 1,24 a 1,64 cm, de 1,02 a 1,20 cm e de 4,39 a 5,20 mm, respectivamente. Esses valores são superiores aos de Bardales et al. (2014), que observaram sementes de camu-camu com médias de comprimento, diâmetro e espessura de 1,35 cm, 1,06 cm e 4,68 mm, respectivamente, e inferiores aos observados por

Smiderle et al. (2015), onde as médias de comprimento, diâmetro e espessura foram 1,72 cm, 1,28 cm e 6,22 mm. Esses resultados permitem inferir a grande variabilidade biométrica existente dentro da espécie.

Pelos resultados obtidos (Tabela 4), verificou-se que o teor de água das sementes entre os cinco clones avaliados variou de 39,4 a 40,5%. Não houve diferença significativa para o início e velocidade de emergência entre os clones CPATU 1, 2, 3 e 6. O clone CPATU 9 foi mais lento no início do processo germinativo, com aproximadamente 29 dias após o semeio e o que alcançou a menor velocidade de emergência. As médias do diâmetro de epicótilo de todos os clones avaliados, não apresentaram diferenças significativas quando submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O clone CPATU 2 alcançou a maior porcentagem de germinação ao final do experimento, com 98% de sementes germinadas. No entanto, não diferiu significativamente do clone CPATU 6 com 91%. Estes resultados são superiores aos encontrados por Smiderle et al. (2015), que avaliaram sementes com tegumento totalmente marrom, que atingiram 79% de germinação e Souza et al. (2017), que avaliaram a germinação de sementes grandes e médias de camu-camu, alcançaram os valores de 90% e 85,2% de germinação respectivamente. Nos clones CPATU 1 e 9, observaram-se as menores taxas de germinação 69,5% e 75% de sementes germinadas, respectivamente. Os tempos médios de germinação foram os maiores entre os clones avaliados, aproximadamente 42 dias.

Com relação a avaliação da germinação houve diferença significativa entre os clones avaliados para todas as variáveis. Observaram-se que as sementes dos clones CPATU 2, 3 e 6 apresentaram as maiores médias. Embora o clone CPATU 3 tenha se diferenciado significativamente dos clones CPATU 2 e 6 na porcentagem de germinação, não diferiu na avaliação das plântulas, obtendo bom desempenho e também foi considerado com sementes vigorosas. A altura da plântula foi 39,15 cm, 36,85 cm, 36,80 cm e comprimento de raiz 19,55

cm, 15,55 cm, 18,40 cm para os clones CPATU 2, 3 e 6 respectivamente. Estes três clones podem ser considerados superiores, pois apresentaram as maiores taxas de germinação. Essas médias são superiores as encontradas por Smiderle et al. (2015), plântulas com altura de 23,9 cm e comprimento de raiz 12,9 cm. Os clones CPATU 1 e 9 foram os menos vigorosos. Souza et al. (2017), ressaltaram que plântulas com elevado teor de biomassa, provavelmente, originarão mudas mais vigorosas e com maior capacidade de sobrevivência em condições adversas.

### **Conclusão**

1. A caracterização de frutos, sementes, estruturas vegetativas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, descritas e ilustradas neste trabalho são úteis e satisfatórias para auxiliar a identificação da espécie em seu estado inicial de desenvolvimento e compreensão da sua germinação, pois não apresentaram plasticidade morfológica.
2. Existe ampla variabilidade biométrica entre os clones avaliados, com elevado potencial genético.
3. Nas condições estabelecidas, o clone CPATU 2 apresenta os melhores resultados com destaque para a porcentagem de polpa, porcentagem de germinação e sementes mais vigorosas.

### **Agradecimentos**

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi e a Universidade Federal Rural da Amazônia pelo apoio acadêmico, a Embrapa Amazônia Oriental pelo suporte de equipamentos, locações e material genético e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo financiamento da bolsa de estudo.

## Referências

- AGUIAR, J.P.L.; SOUZA, F.C.A. Camu-camu super fruit (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) at diferente maturity stages. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.28, p.2519-2523, 2016.
- AKTER, M.S.; OH, S.; EUN, J.B.; AHMED, M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**, v.44, p.1728-1732, 2011.
- ANJOS, A.M.G DOS; FERRAZ, I.D.K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de Araçá-boi (*Eugenia stipitata* spp. *sororia*). **Acta Amazônica**, v.29, n.3, p.337-348, 1999.
- BARBOSA, V. M; SANTIAGO, E.F. Germinação de sementes, biometria de frutos e anatomia das plântulas de *Eugenia tapacumensis* Berg (Myrtaceae). In: Encontro de Iniciação Científica (ENIC), 7, 2009, Dourados. **Anais...** Dourados: UEMS, 2009.
- BARDALES, A.E.M.; PISCO, E.G.C.; FLORES, A.J.F.; MASHACURI, N.R.; RUÍZ, M.C.; CORREA, S.A.I.; GÓMEZ, J.C.C. Semillas y plántulas de *Myrciaria dubia* “camu-camu”: biometría, germinación y crecimiento inicial. **Scientia Agropecuaria**, v.5, p.85-92, 2014.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, Viçosa: Ed. Imprensa Universitaria, v.2, 1991.
- BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. Frutos e sementes. **Morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Editora UFV, Universidade Federal de Viçosa. 1999. 443p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para Análise de Sementes de Espécies Florestais**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/CGAL, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 429p.

CHAGAS, E. A., LOZANO, R. M. B., BACELAR-LIMA, C. G., GARCIA, M. I. G., OLIVEIRA, J. V., SOUZA, O. M., MORAIS, B. S., CHAGAS, P. C.; ARAÚJO, M. C. R. Variabilidade intraespecífica de frutos de camu-camu em populações nativas na Amazônia Setentrional. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, In press. 2015.

CORNER, E.J.H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University, v.1. 1976. p 202-205.

CORREA, S.I. **Cultivo de camu-camu *Myrciaria dubia* H.B.K. na região de Loreto**. Iquitos: INIA, 2000. 32 p.

COSMO, N.L.; GOGOSZ, A.M.; NOGUEIRA, A.C.; BONA, C. E KUNIYOSHI, Y.S. Morfologia do fruto, da semente e morfo-anatomia da plântula de *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (Lamiaceae). **Acta Botanica Brasilica**,.v.23, n.2, p.389-397, 2009.

COSTA, R.S.; OLIVEIRA, I.V.M.; MÔRO, F.V.; MARTINS. A.B.G. Aspectos morfológicos e influência do tamanho da semente na germinação do jambo-vermelho. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 117-120, 2006.

FERREIRA, S.A.N.; GENTIL, D.F.O. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.440-442, 2003.

FLORES, E.M.; RIVERA, D.I. Criptocotilia en algunas dicotiledoneas tropicales. **Brenesia**, v.32, p.19-26, 1989.

GURGEL, E. S.; FALCÃO-SILVA, M.; LUCAS, F. C. A.; CARREIRA, L. M.; SANTOS, J. U. DOS. Morfologia do fruto e da semente de três espécies de *Senna* Mill. (Leguminosae - Caesalpinioideae). **Biota Amazônica**. v.4, n.2, p.80-86, 2014.

GURGEL, J.T.A. Poliembrionia em Mirtáceas Frutíferas. **Bragantia**, v.11, p.4-6. 1951.

GUSMÃO, E.; VIEIRA, F.A.; FONSECA JÚNIOR, E.M da.. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.). **Cerne**, Lavras, v.12, n.1, p.84-91. Nota Técnica. 2006.

CORREA, S. I.; PINEDO FREYRE, S.; MELCHOR ALDANA, M. Caracterización morfológica y evolución de la colección nacional de germoplasma de camu-camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh, of the INIA Loreto-Peru. **Scientia Agropecuaria** v.2, n.4, p.289-201, 2011.

LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v.49, n.4, p.508-536, 1997.

LUCAS, E. J.; HARRIS, S. A.; MAZINE, F. F.; BELSHAM, S. R.; LUGHADHA, E. M. N.; TELFORD, A.; GASSON, P. E.; CHASE, M. W. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v. 56, n. 4, p. 1105–1128, 2007.

LUGHADHA, E.N.; PROENÇA, C. A. Survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Ann. Missouri Bot. Gard.** v.83, p.480-503.7, 1996.

MAEDA, R. N., PANTOJA, L., YUYAMA, L. K. O., & CHAAR, J. M. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.70-74, 2006.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination and in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n.3, p. 176-177, 1962.

MARQUES, D. N.; OLIVEIRA, M. S. P. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. Repetibilidade para caracteres de frutos em plantas de camucamuzeiro. In: **Encontro Amazônico de Agrárias**, 4, 2012, Belém. **Anais...** Belém: UFRA, 2012.

MATHEUS, M.T.; LOPES, J.C.; Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p.08-17, 2007.

NASCIMENTO. W.M.O DO; GURGEL, F.L.; BHERING, L.L.; RIBEIRO, O.D.; SOARES, A.C.S. Avaliações Preliminares de parâmetros genéticos de acessos de *Myrciaria dúbia* por marcadores fenotípicos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 87. 2013.

NASCIMENTO, W.M.O; GURGEL, F.L.; BHERING, L.L.; RIBEIRO, O.D. Pré-melhoramento do camucamuzeiro: estudo de parâmetros genéticos e dissimilaridade. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, n.4, p.538-543, 2014.

PINEDO, P.M.; RIVA, R.R.; RENGIFO, S.E.; DELGADO, V.C.; VILLACRES, V. J.; GONZÁLES, C.A.; INGA, S.H.; LÓPEZ, U.A.; FARROÑAY, P.R. VEGA, V.R. LINARES, B.S. Sistema de producción de camu-camu en restinga. **Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana**. Iquitos. Perú 141, 2001.

REGO, S.S.; NOGUEIRA, A.C.; KUNIYOSHI Y.S.; SANTOS, A.F.dos. Caracterização morfológica do fruto, da semente e do desenvolvimento da plântula de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. E *Myrceugenia gertii*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n.3, p. 052-060, 2010.

RIBEIRO, O. D.; NASCIMENTO, W. M. O.; RODRIGUES, O.M. Caracterização física de fruto de matrizes estabelecidas no BAG camucamuzeiro da Embrapa Amazônia oriental. In: Seminário de Iniciação Científica, 16, 2012, Belém. **Anais**. Belém: EMBRAPA, 2012.

RIVA RUIZ, R. Tecnologia de producción agronomica del camu-camu. In: Curso sobre manejo e industrialización de los frutales nativos em la Amazonía peruana. Pucallpa, **Memoria**. Pucallpa: INIA, 1994. p.13-18.

SANTOS, C.M.R. dos; FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E.A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v.14, n.2, p.13-20, 2004.

SILVA, F. W. A. DA; GURGEL, E. S.; CRUZ, E.D.; SANTOS, J. U. DOS. Morfologia do fruto, da semente, da plântula e da planta jovem de *Sarcaulus brasiliensis* A. DC. Eyma (Sapotaceae). **Biota Amazônica**. v.4, n.3, p.7-11, 2016.

SMIDERLE, O.J.; CHAGAS, E.A.; SOUZA, A.G.; BACELAR-LIMA, C.G.; RIBEIRO, M.I.G.; CHAGAS, P.C.; SOUZA, O.M. Biometrics seeds, emergence and vigor of camu-camu seedlings depending on the seed coat coloring. **Journal of Advances in Agriculture** v.5, p.316-323, 2015.

SOUZA, R.C.P DE; BACELAR-LIMA, C.G.; SILVA, M.R. DA; SMIDERLE, O.J.; CHAGAS, E.A. Description and automated seed morphostructural characterization of *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: Diagnostic Imaging. **Revista Brasileira de Biociências**., Porto Alegre, v. 15, n.2, p. 60-67, 2017.

SOUZA, O.M.; SMIDERLE, O.J.; SOUZA, A.G.; CHAGAS; E.A.; CHAGAS, P.C.; BACELAR-LIMA, C.G.; MORAIS, B.S.; Influência do tamanho da semente na germinação e vigor de plântulas de populações de Camu-Camu. **Scientia Agropecuaria**, v.8, n.2, p.119 - 125, 2017.

WELTER, M.K., et al. Efeito da aplicação de pó de basalto no desenvolvimento inicial de mudas de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 922-931, 2011.



YUYAMA, K. A. Cultura do camu-camu no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.335-690, 2011.

YUYAMA, K. A. et al. **Camu-camu**. Jaboticabal: Funep, 2010. 50p. (Série Fruta Nativa 4).

YUYAMA, K.; AGUIAR, J.P.L.; YUYAMA, L.K.O. Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C. **Acta Amazonica**, v.32, n.1, p.169-174, 2002.

**Tabela 1.** Periodicidade, em dias, da formação das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e da plântula dos cinco clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

Clones	Raiz	Raiz lateral	Epicótilo	Catafilo	Eofilo expandido	Plântula
CPATU 1	20	30	29	38	50	56
CPATU 2	16	18	20	22	28	38
CPATU 3	16	19	20	22	29	41
CPATU 6	17	19	20	22	27	41
CPATU 9	17	19	24	26	33	47

**Tabela 2.** Valores médios para características biométricas em frutos de cinco clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

Clones	Massa Fruto (g)	Comp. Fruto (cm)	Diâm. Fruto (cm)	Espessura Epicarpo (mm)	Semente Fruto (n°)	Epicarpo (%)	Polpa (%)	Semente (%)
CPATU 1	6,18 (±1,29) <sup>1</sup>	2,11 (±0,16) <sup>1</sup>	2,20 (±0,15) <sup>1</sup>	0,63 (±0,14) <sup>1</sup>	1,45 (±0,59) <sup>1</sup>	23,37 (±3,21)	58,45 (±5,07)	19,18 (±3,90)
CPATU 2	8,00 (±2,27)	2,30 (±0,24)	2,36 (±0,23)	0,67 (±0,16)	1,23 (±0,50)	22,96 (±3,34)	63,67 (±3,45)	13,37 (±3,45)
CPATU 3	3,58 (±1,43)	1,69 (±0,27)	1,80 (±0,24)	1,13 (±0,34)	1,13 (±0,34)	22,15 (±8,25)	58,68 (±11,55)	19,16 (±6,32)
CPATU 6	7,27 (±1,75)	2,19 (±0,23)	2,27 (±0,20)	0,34 9±0,09)	1,48 (±0,65)	17,81 (±4,68)	61,34 (±10,13)	20,85 (±6,92)
CPATU 9	5,51 (±1,24)	2,00 (±0,16)	2,07 (±0,21)	0,47 (±0,17)	1,27 (±0,57)	19,74 (±2,89)	62,83 (±5,79)	17,42 (±5,06)
Média	5,11	2,06	2,14	0,65	1,31	21,21	60,99	18,00
Mínimo	3,58	2,00	1,80	0,34	1,13	17,81	58,45	13,37
Máximo	8,00	2,30	2,36	1,13	1,45	23,37	63,67	20,85
Desv. Padrão	1,71	0,23	0,22	0,30	0,15	2,36	2,37	2,86

<sup>1</sup>Valores representam médias, frutos <sup>1</sup>n = 60.

**Tabela 3.** Valores médios para características biométricas em sementes de cinco clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

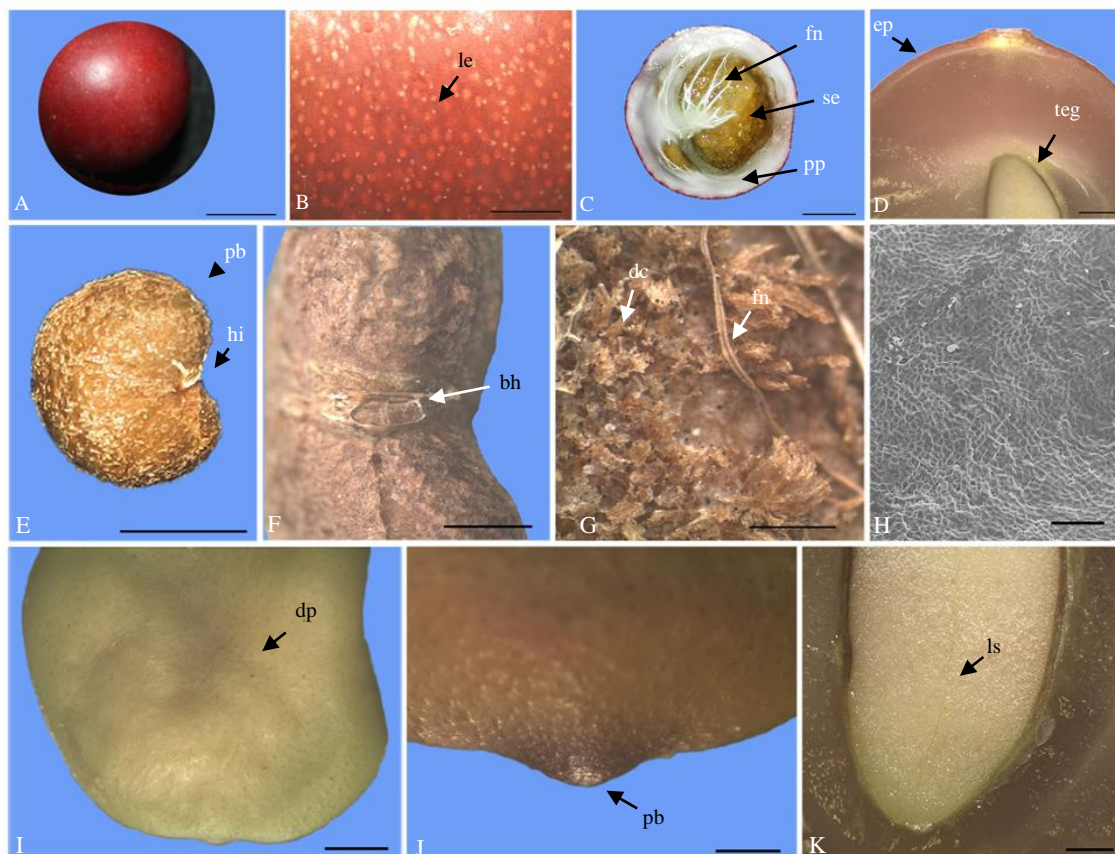
Clones	Massa de 1.000 sementes (g)	Massa (g)	Comprimento (cm)	Diâmetro (cm)	Espessura (mm)
CPATU 1	710	0,83* ( $\pm 0,23$ )	1,57 ( $\pm 0,15$ )	1,20 ( $\pm 0,20$ )	5,15 ( $\pm 0,74$ )
CPATU 2	586	0,87 ( $\pm 0,24$ )	1,55 ( $\pm 0,19$ )	1,12 ( $\pm 0,13$ )	4,60 ( $\pm 0,53$ )
CPATU 3	750	0,57 ( $\pm 0,26$ )	1,24 ( $\pm 0,23$ )	1,02 ( $\pm 0,23$ )	4,39 ( $\pm 0,53$ )
CPATU 6	771	1,07 ( $\pm 0,27$ )	1,64 ( $\pm 0,20$ )	1,25 ( $\pm 0,95$ )	5,20 ( $\pm 0,75$ )
CPATU 9	527	0,79 ( $\pm 0,22$ )	1,39 ( $\pm 0,18$ )	1,03 ( $\pm 0,19$ )	4,98 ( $\pm 0,86$ )
Média	669	0,83	1,49	1,12	4,86
Mínimo	527	0,57	1,24	1,02	4,39
Máximo	771	1,07	1,64	1,20	5,20

\* Valores representam médias, sementes<sup>1</sup>n = 60.

**Tabela 4.** Dia para o início da emergência de plântulas (DIE), germinação (G), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de germinação (TMG), comprimento do epicótilo (CE), comprimento da raiz primária (CRP), diâmetro do epicótilo (DE), diâmetro do coleto (Dcol), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) em clones de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. aos 75 dias.

Clones	CPATU 1	CPATU 2	CPATU 3	CPATU 6	CPATU 9
Teor de água (%)	39,3	40,0	39,4	38,9	40,5
DIE	27,25 ab*	22,25 a	25,00 ab	23,50 ab	29,25 b
G (%)	69,5 b*	98 a	87,5 ab	91 a	75 b
IVE	0,025 ab*	0,0325 a	0,03 ab	0,03 ab	0,022 b
TMG (dia)	42,31 b*	29,73 a	36,48 b	37,38 b	41,94 b
CE (cm)	10,55 b*	19,6 a	17,7 a	18,4 a	10,7 b
CRP (cm)	7,5 b*	19,55 a	19,15 a	18,4 a	9,5 b
DE (mm)	0,1 ns	0,10	0,15	0,10	0,10
Dcol (mm)	0,1 b*	0,2 a	0,2 a	0,2 a	0,125 b
MSPA (g/plântula)	0,040 b*	0,178 a	0,176 a	0,171 a	0,046 b
MSR (g/plântula)	0,028 b*	0,102 a	0,094 a	0,0894 a	0,028 b

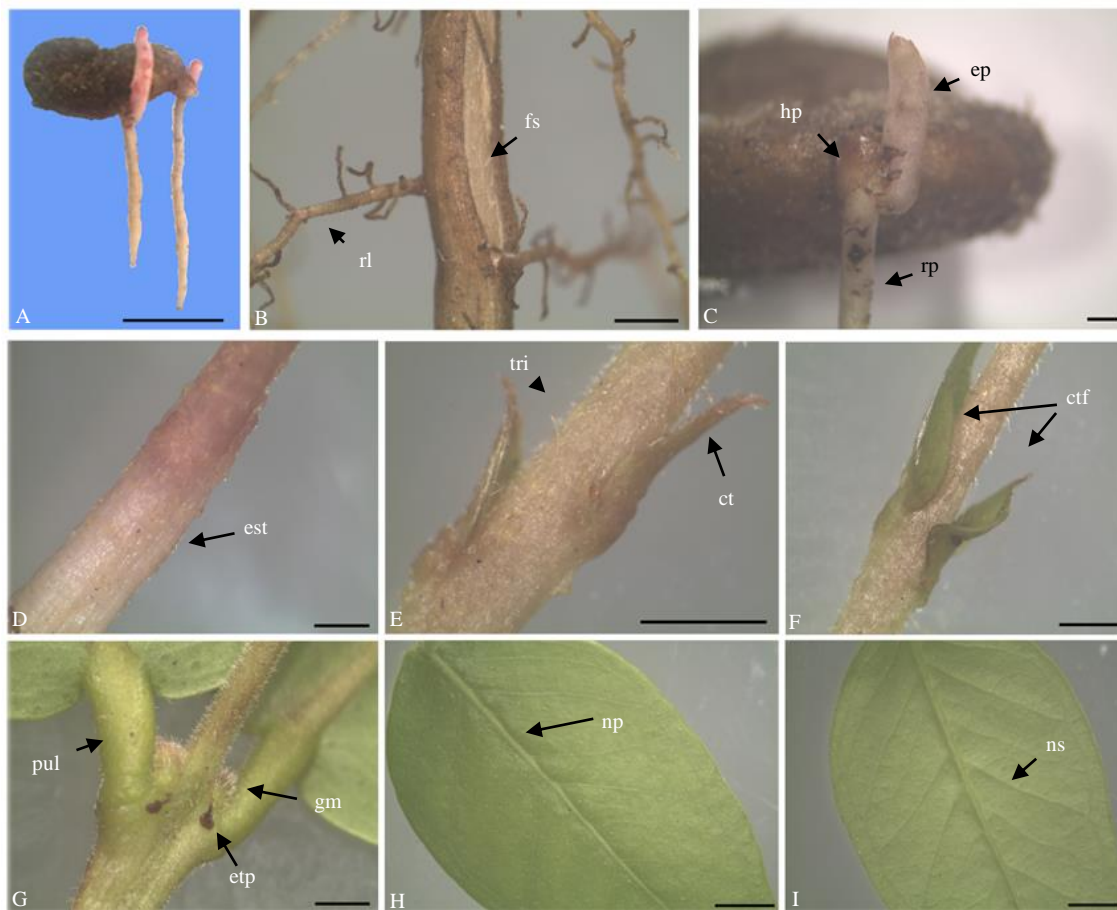
Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns - não significativo no teste a 5%.



**Figura 1.** Morfologia do fruto e das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: A, fruto inteiro; B, detalhe do epicarpo; C, fruto em secção transversal; D, fruto e semente em secção transversal; E, semente reniforme; F, hilo oblongo; G, tegumento externamente; H, tegumento internamente; I, superfície dos cotilédones; J, protuberância nos cotilédones; K, secção transversal evidenciando a soldadura dos cotilédones, em que: bh-borda hilar, dc-descamação, dp-depressões dos cotilédones, ep-epicarpo, fn-funículo, hi-hilo, le-lenticelas, ls-linha de soldadura, pb-protuberância, pp-polpa, se-semente, teg-tegumento. Escalas: A e C: 1 cm; B, D, F, I e J: 2 mm; E: 2cm; G e K: 1mm; H: 50 $\mu$ m (Autora das imagens: Olívia Ribeiro).



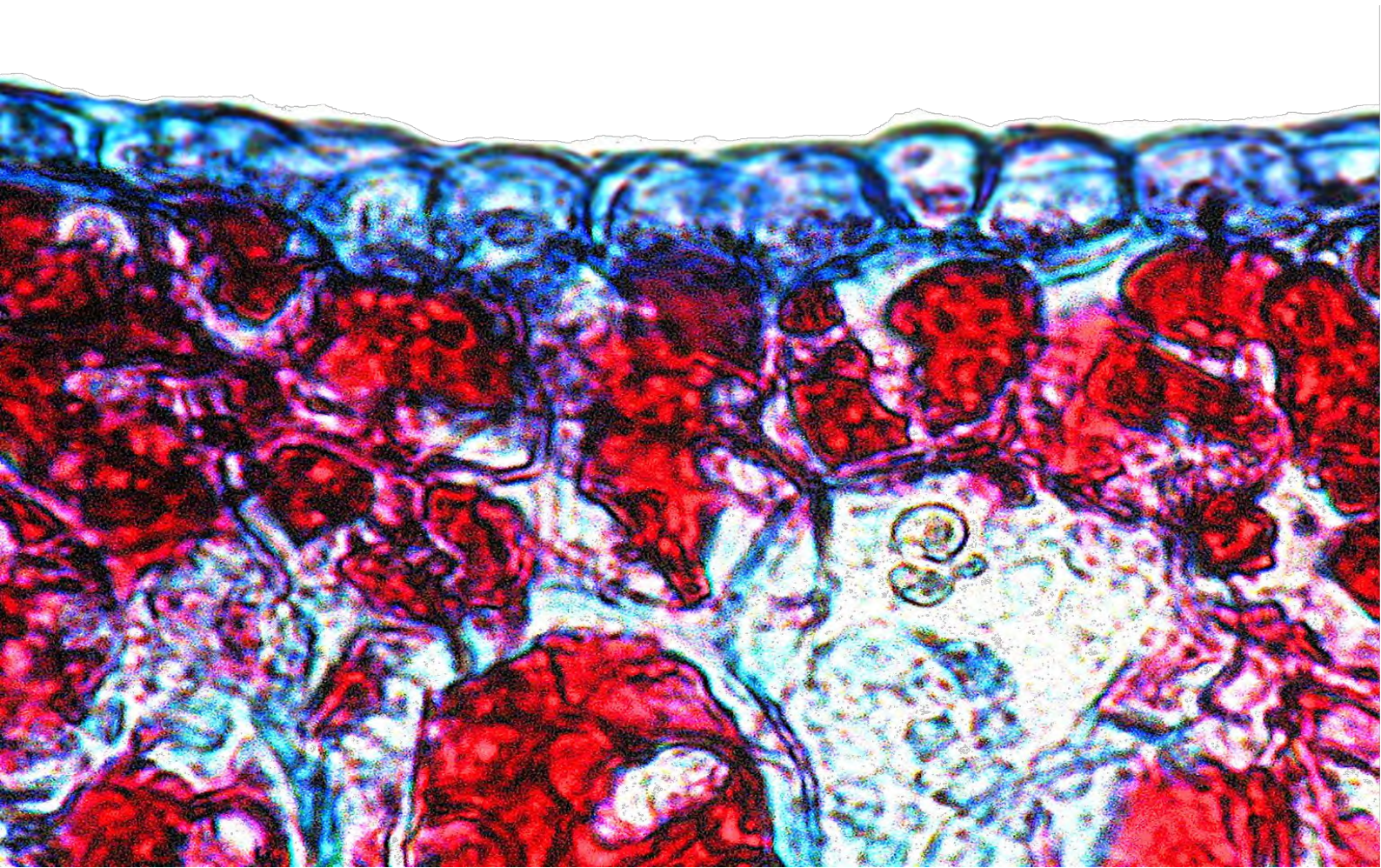
**Figura 2.** Etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: A, protrusão da raiz principal; B, raiz principal alongada; C, surgimento das raízes laterais e catafilos; D, epicótilo alongado com surgimento dos eofilos; E, expansão dos eofilos; F, primeiros pares de eofilos expandidos; G, filotaxia oposta; H, filotaxia verticilada, em que: ct-catafilos, ctf-catafilos fotossintetizantes, eoe-eofilo expandido, eof-eofilo fechado, ep-epicótilo, fta-filotaxia oposta, ftv-filotaxia verticilada, rl-raiz lateral, teg-tegumento (Autor da ilustração: Carlos Alvarés).



**Figura 3.** Detalhes das estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântula de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh: A, poliembryonia; B, fissura na raiz principal; C, hipocótilo reduzido; D, epicótilo estriado; E, catafilo; F, catafilo fotossintetizante; G, estípulas e pulvino; H, face adaxial do eofilo; I, face abaxial do eofilo, em que: ct-catafilos, ctf-catafilos fotossintetizantes, ep-epicótilo, est-estrias, etp-estípula, gm-gemas, hp-hipocótilo reduzido, np-nervura primária, ns-nervura secundária, pul-pulvino, rz-raiz, fs-fissura, rl-raiz lateral, tri-tricomas. Escalas: A: 2cm; C, E, F, G e I: 1 mm; B, D e H: 2 mm (Autora: Olívia Ribeiro).

### 3. Anatomia e histoquímica de sementes de camu-camu

Manuscrito a ser submetido para publicação na Revista Acta Amazônica.



## **Anatomia e histoquímica de sementes de camu-camu**

**Olivia Domingues Ribeiro<sup>\*1,2</sup>, Ely Simone Cajueiro Gurgel<sup>2</sup> e Walnice Maria Oliveira do Nascimento<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

<sup>2</sup> Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica, Belém, Pará, Brasil.

<sup>3</sup> Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, Brasil.

\* Autor para correspondência: [olivia\\_dr83@yahoo.com.br](mailto:olivia_dr83@yahoo.com.br).



## RESUMO

O camu-camu é um fruto tropical da Amazônia, pertencente a Myrtaceae, frutífera que merece cada vez mais atenção, devido as características peculiares de seus frutos, como o alto teor de vitamina C. São escassos os estudos anatômicos e histoquímicos de sementes de camu-camu, cujas principais composições químicas da semente não estão satisfatoriamente estudadas. Objetivou-se descrever a anatomia e identificar os compostos de armazenamento das sementes de camu-camu. Através de cortes anatômicos, as estruturas da semente foram caracterizadas e suas principais substâncias de reserva foram identificadas por meio de testes histoquímicos. Em secção transversal o tegumento apresentou epiderme composta por uma camada de células de formato tabular e parênquima subepidérmico formado por aproximadamente 15 camadas de células irregulares, ricas em conteúdo fenólico, pectinas, alcaloides e terpenos; os cotilédones apresentam epiderme unisseriada e parênquima, com parede celular rica em pectinas e células poliédricas com uma grande concentração de grãos de amido, feixes vasculares dispersos, além da presença de alcaloides, idioplastos com conteúdo fenólico e terpenos. Foram observados corpos lipídicos, alcaloides e proteínas no citosol. O eixo embrionário é indistinto, os cotilédones espessos, com células indiferenciadas, protoderme composta por células cubóides, justapostas, núcleo conspícuo e paredes delgadas.

**Palavras-chave:** Amazônia, metabólitos secundários, *Myrciaria. dubia*, reserva.

## INTRODUÇÃO

O camu-camu pertence à família Myrtaceae, é um fruto da Amazônia que cresce as margens de rios e lagos em toda a Bacia Amazônica (Zanatta e Mercadante, 2007). Foi descrito pela primeira vez em 1823 como *Psidium dubium* Kunth por Humboldt, Bonpland e Kunth. e reclassificado para o gênero *Myrciaria* em 1963 por Rogers McVaugh, passando a se chamar *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (Tropicos, 2018).

O camucamuzeiro é uma frutífera que merece cada vez mais atenção, devido as características peculiares de seus frutos (Correa *et al.* 2011a). Para Freitas *et al.* (2016), o alto teor de vitamina C no fruto do camu-camu, torna a espécie um alvo interessante para diversos estudos científicos, dentre eles, seu uso como alimento nutracêutico e em cosméticos, em razão do seu alto teor de ácido ascórbico que equivale quase 30 vezes a mais que em outros cítricos, como a laranja, o limão e a tangerina (Correa *et al.* 2011a).

O camu-camu está sendo considerado o “tesouro da Amazônia”, por ser uma cultura com alto potencial socioeconômico e nutricional para a região (Correa *et al.* 2011b). Tem grande capacidade oxidativa e excelentes fontes de bioativos como, compostos fenólicos e carotenoides, que criou uma grande demanda no mercado de produtos naturais, tendo como principal mercado de exportação o Japão, França, Alemanha e os Estados Unidos (Chirinos *et al.* 2010; Akter *et al.* 2011).

São escassos os estudos histoanatômicos das sementes de camu-camu, visto que, a maioria dos trabalhos publicados com a espécie, foca na análise da composição química da polpa e do epicarpo, e na biologia floral como o de Maués e Couturier (2002); Zanatta *et al.* (2005); Zanatta e Mercadante (2007); Aguiar e Souza (2016); Freitas *et al.* (2016); Correa *et al.* (2011b) e Souza *et al.* (2017). Poucos são os trabalhos que inseriram as sementes nessas análises, como exemplo citamos Yazawa *et al.* (2011) e

Myoda *et al.* (2010), que avaliaram os extratos de sementes oriundos de resíduos de suco de camu-camu.

A anatomia de sementes de Myrtaceae, tem sido caracterizada com alguma ênfase para espécies de importância econômica (Justo *et al.* 2007), seguramente esses estudos permitem uma investigação ainda mais aprofundada das mesmas, além disso, trabalhos que abordam a caracterização de sementes, fornecem informações importantes à identificação e circunscrição de taxons, além da possível obtenção de indicações sobre germinação, armazenamento, viabilidade e métodos de semeadura (Rego *et al.* 2010).

O camu-camu assim como outras espécies nativas da amazônia ainda não tem a anatomia da semente caracterizada e a sua composição química satisfatoriamente estudada. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi descrever a anatomia e identificar os compostos de armazenamento das sementes de cinco clones de camu-camu do Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, por meio da descrição dos caracteres microscópicos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Sementes maduras foram adquiridas de 15 plantas de cinco clones de camucamuzeiro com delineamento de blocos ao acaso do Banco Ativo de Germoplasma - BAG, da Embrapa Amazônia Oriental, localizado nas coordenadas geográficas 48°26'45"W e 1°26'31"S.

Para os estudos anatômicos as sementes foram previamente embebidas em água destilada, durante 24 horas e os embriões foram cortados com auxílio de lâmina de aço. As amostras foram fixadas em FAA 50% (Johansen 1940) durante 24 horas e conservadas em álcool etílico a 70%, posteriormente desidratadas em série etílica, e acetato de butila para inclusão em parafina histológica (Johansen 1940), seccionadas em

micrótomo rotativo com 12 µm de espessura, coradas com azul de toluidina 0,5%, pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964) e safranina (Krauss e Arduin 1997) e montadas em Entellan®.

Para os testes histoquímicos, foram utilizadas secções transversais e longitudinais de amostras frescas, alguns cortes histológicos foram montados e fotografados simultaneamente sem submetê-los aos reagentes, visando constatar o aspecto natural das substâncias secretadas.

Os reagentes utilizados foram: solução aquosa de cloreto férrico a 10% para compostos fenólicos (Johansen 1940); reagente de Wagner para alcalóides gerais (Furr e Mahlberg, 1981); Sudan III para detecção de lípidios totais (Johansen 1940); solução aquosa de vermelho de rutênio a 0,02% para identificação de polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen 1962); solução de lugol (iodo + iodeto de potássio) para amido (Johansen 1940); xilidine ponceau para proteínas (O' Brien e McCully 1981); reagente NADI (David e Carde, 1964) para terpenos. Os controles para cada teste seguiram as indicações dos respectivos autores. Lâminas temporárias foram montadas em glicerina.

Foram realizadas triplicatas para a caracterização anatômica e para os testes histoquímicos de cada clone avaliado.

As fotomicrografias dos aspectos anatômicos das sementes foram obtidas com câmara digital (Canon Power Shot A6 40) acoplada ao microscópio luz (Zeiss Axiolab) do laboratório de Microscopia da Coordenação de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi.

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), secções do tegumento, dos cotilédones e da protuberância das sementes foram previamente fixadas em solução de glutaraldeído 2,5% e tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3, na mistura de Karnovsky (1965) e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1%, foram lavadas três vezes no mesmo tampão e

desidratadas em série alcoólica (Gahan 1984) e processadas em secador de ponto crítico, usando o CO<sub>2</sub> como líquido de transição (Bozzola e Russel 1991), posteriormente fixadas com grafite sobre suporte de alumínio e recobertas com carbono e ouro. As imagens foram obtidas no Laboratório Institucional de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi, utilizando o microscópio eletrônico (LEO modelo 1450 VP).

## **RESULTADOS**

Não houve diferença anatômica e histoquímica entre os clones avaliados. As descrições deste estudo estão baseados nas imagens dos cinco clones estudados.

A parede periclinal externa das células do tegumento apresenta superfície irregular e, provavelmente, com resíduos do mesocarpo aderido, com células com formato tabular, bastante irregulares (Figura 1A). A parede periclinal interna é faviforme (Figura 1B).

Em secção transversal o tegumento apresenta-se com aproximadamente 15 camadas de células (Figura 1C), estas divididas em dois estratos, o primeiro com células alongadas, justapostas e lignificadas formando uma camada paliçádica (Figura 1D). O segundo estrato é composto por células mais arredondadas, com paredes espessas, grandes espaços intercelulares (Figura 1E), ricas em conteúdo fenólico, pectinas, bem como lipídios e terpenos (Figuras 1F-I).

Na região meristemática, localizada em um dos ápices da semente, onde ocorre a protrusão da raiz e do epicótilo, a parede periclinal externa da epiderme apresentou uma camada de células reticuladas, com pontoações globosas, elevadas e irregulares, presumivelmente estruturas secretoras (Figura 2A e 2B ).

Os cotilédones são revestidos por uma epiderme formada por células justapostas, retangulares, formam uma camada unisseriada, paredes finas e espessas, com campos irregulares, sem ornamentação (Figura 2D). As cavidades próximo a epiderme são dispostos lado a lado, enquanto que os subepidérmicos são solitários, apresentam lúmen isodiamétrico e epitélio unisseriado formado por células tabulares (Figura 2E). Através da reação positiva ao reagente de Wagner, coloração castanho avermelhado no exudado da cavidade secretora, evidenciou-se a presença de alcalóides no lúmen (Figura 2F).

O mesofilo cotiledonar é composto por tecido parenquimático, com característica de reserva, feixes vasculares dispersos (Figura 2G), possui ductos secretores com conteúdo fenólico, distribuídos irregularmente por toda sua extensão, é homogêneo com várias camadas de células isodiamétricas, poliédricas, com uma grande concentração de grãos de amido simples e esféricos que possuem núcleo bem evidente (Figura 2H, 2I), afirmados pela reação positiva para o reagente lugol (Figura 3A), estão presentes em todo citoplasma celular; paredes anticlinais são delgadas, com pontoações e espaços intercelulares.

Idioblastos globosos contendo terpenos (reação positiva para o reagente NADI) (Figura 3B) e compostos fenólicos, evidenciado pela reação positiva (coloração negra) ao cloreto férrico à 10% (Figura 3C) foram notados no mesofilo cotiledonar. A parede das células parenquimáticas são ricas em polissacarídeos, principalmente pectinas, comprovados pelo resultado positivo para o teste vermelho de rutênio (Figura 3D). Corpos lipídicos foram observados (reação positiva para sudan III) (Figura 3E), bem como, a presença abundante de proteínas e alcalóides no citosol (Figura 3F e 3G).

O embrião apresenta-se homogêneo, sem delimitações aparentes de suas estruturas principais, composto por uma massa cotiledonar maciça. O eixo embrionário

é indistinto, os cotilédones espessos, com células indiferenciadas (Figura 3H), protoderme composta por células cubóides, justapostas, núcleo conspícuo e paredes delgadas. Não foi possível descrever o meristema fundamental cortical, procâmbio e meristema fundamental medular.

## DISCUSSÃO

Ao estudar *Eugênia puniceifolia* (Kunth) DC, Moreira-Coneglian (2007) observou características semelhantes, como embrião volumoso, eixo hipocótilo-radícula curto e indistinto dos cotilédones que se apresentaram parcialmente concrecidos. Em sementes maduras de *Myrceugenia rufa* (Colla) Skottsb. Ex Kausel., Retamales *et al.* (2014), acentuaram a ausência de endosperma e o embrião ocupando a maior parte da semente, semelhante ao embrião observado no camu-camu, além do hipocótilo conspícuo. Essas características ressaltaram a proximidade entre os gêneros discutidos, excetuando o hipocótilo, que é inconspícuo em *M. dubia* objeto desta investigação. Corner (1976), ao caracterizar o gênero *Psidium* L., observou testa múltipla com 15 a 26 camadas de células esclerificadas. *Eugenia bimarginata* DC., apresentou exotesta com macroesclereides e células paliçádicas de parede espessada e lignificada, a mesotesta e a endotesta formadas por braquiesclereides com conteúdo fenólico com paredes lignificadas e pontoações evidentes (Moreira-Coneglian 2011). Para *Myrceugenia* O. Berg, Retamales *et al.* (2014), observaram a testa com duas camadas esclerificadas. Para *Myrciaria dubia*, não foi possível classificar os estratos da testa, pois nesse trabalho não foi realizado estudos ontogenéticos da semente. No entanto, as características citadas estão de acordo com as observadas para tribo.

Segundo Rocha *et al.* (2011), substâncias fenólicas podem desempenhar diferentes funções nas plantas, entre elas, proteção contra herbivoria e regular a

germinação. Myoda *et al.* (2010), ao analisarem o potencial oxidativo de resíduos de suco de camu-camu, constataram o elevado teor de compostos fenólicos no extrato de sementes, sugeriram que a quantidade dessa substância nas sementes é superior aos encontrados no epicarpo do fruto. O mesmo estudo indicou que os componentes fenólicos presentes nas sementes de camu-camu, podem ser responsáveis pela sua atividade antioxidante, tornando-a uma fonte eficaz e aplicável para a indústria alimentar de grande relevância, quando comparadas aos resíduos de acerola, abacaxi, maracujá e outras frutas tropicais. Em *Myrciaria dubia*, os compostos fenólicos acumularam-se principalmente no envoltório seminal. No entanto, está presente também nos ductos e idioblastos nos cotilédones.

Ao descrever *Eugenia bimarginata* DC, Moreira-Coneglian (2011) observou os cotilédones contendo protoderme de células justapostas e meristema fundamental com paredes delgadas com presença de grãos de amido, canal secretor subepidérmico, cordões procâmbiais dispersos e algumas células com conteúdo fenólico. Características semelhantes as encontradas nas sementes da espécie investigada neste trabalho.

Para Souza-Filho *et al.* (2011), a presença de alcalóides em vegetais, além de exercer o importante papel de proteção contra herbivoria, tem se mostrado efetivo em seu papel medicinal.

Yazawa *et al.* (2011), observaram a presença de ácido betulínico (triterpeno) no extrato de sementes de camu-camu. Os mesmos indicaram essa substância como responsável pela atividade anti-inflamatória presente na semente. O terpeno encontrado nas sementes da espécie objeto deste estudo foi localizado na camada mais interna do tegumento seminal.



As principais substâncias de reserva das sementes maduras são corpos proteicos, corpos lipídicos e carboidratos na forma de amidos (Werker 1997). Em *Myrciaria dubia*, foram observados os três tipos de reservas.

## **CONCLUSÕES**

A anatomia da semente de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh segue o padrão de distribuição anatômica descrito para a maioria das Myrtaceae, apresenta o embrião homogêneo composto por uma massa cotiledonar maciça e eixo embrionário indistinto. A determinação da localização dos metabólitos secundários no tegumento, pode auxiliar estudos posteriores, com o objetivo de isolar essas substâncias. Foram encontradas os três principais tipos de reserva nutritiva nas sementes. Recomenda-se a realização de estudos ontogenéticos em *Myrciaria dubia* para melhor compreensão da origem de cada camada que compõe o tegumento.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi e a Universidade Federal Rural da Amazônia pelo apoio acadêmico, a Embrapa Amazônia Oriental pelo suporte de equipamentos, locações e material genético, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo financiamento da bolsa de estudo.

## **REFERÊNCIAS**

- Aguiar, J.P.L.; Souza, F.C.A. 2016. Camu-camu super fruit (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) at diferente maturity stages. *African Journal of Agricultural Research*, 11(28): 2519-2523.
- Akter, M.S.; Oh, S.; Eun, J.B.; Ahmed, M. 2011. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. *Food Research International*, 44: 1728-1732.

- Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1991. *Electron microscopy*. Jones and Bartlett Publishers. Boston, 542 p.
- Chirinos, R., Galarza, J., Betalleluz-Pallardel, I., Pedreschi, R., & Campos, D. 2010. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry*, 4:1019-1024.
- Corner, E.J.H. 1976. *The seeds of Dicotyledons*. Cambridge University Press. Cambridge, 311p.
- Correa, S.I.; Pinedo Freyre, S.; Melchor Aldana, M. 2011a. Caracterización morfológica y evolución de la colección nacional de germoplasma de camu-camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh, of the INIA Loreto-Peru. *Scientia Agropecuaria* 2 (4): 289-201.
- Correa, S.I.; Zamudio, L. B.; Solís, V. S.; Cruz, C.O. 2011b. Contenido de vitamina C en frutos de camu-camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh, en cuatro estados de maduración, procedentes de la Colección de Germoplasma del INIA Loreto, Perú. *Scientia Agropecuaria*. 2: 123-130.
- David, R.; Carde, J. P. 1964. Coloration differentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires dès Séances de l' Academie dès Sciences Paris. Série D* 258: 1338–1340.
- Freitas, C. A. B.; Silva, A. S.; Alves, C. N.; Nascimento, W.M.O.; Lopes, A.S.; Lima, M.O.; *et al.* 2016. Characterization of the Fruit Pulp of Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) of Seven Different Genotypes and Their Rankings Using Statistical Methods PCA and HCA. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 00:1-1.

- Furr, M. e Mahlberg P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44:153 -159.
- Gahan, P.B. 1984. *Plant histochemistry and citochemistry*. Academic Press. London, 301 p.
- Jensen, W. A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W. H. Freeman & Co., San Francisco, 408 p.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill. New York. 523 p.
- Justo, C.F.; Alvarenga, A.A de.; Alves. E.; Guimarães. R.M.; Strassburg. R.C. 2007. Efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre a micromorfologia de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. *Acta Botânica. Brasilica*. 21(3): 539-551.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in eletron microscopy. *Journal of Cellular Biology*, 27:137-138.
- Kraus, J. E.; Arduin, M. 1997. *Manual básico de métodos em Morfologia Vegetal*. Edur, Seropédica. Rio de Janeiro. 198 p.
- Maués, M.M. e Guy Couturier, G. 2002. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(4): 441-448
- Moreira-Coneglian, I.R. 2011. *Morfoanatomia de ovário, pericarpo e semente de sete espécies de Myrteae DC (Myrtaceae)*. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo. 115 p.
- Moreira -Coneglian, I. R. 2007. *Morfologia e ontogênese do pericarpo e semente de Eugenia puniceifolia (H. B. & K.) DC., Myrcia bella Camb. e Campomanesia pubescens (DC.) Berg (Myrtaceae)*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo. 122p.

- Myoda, T.; Fujimura, S. Park, B.; Nagashima, T.; Nakagawa, J.; Makoto Nishizawa, M. 2010. Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 8(2): 304 - 307.
- O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59:368-373.
- O'Brien, T.P. & McCully, M.E. 1981. *The study of plant structure: principles and selected methods*. Termarcaphi Pty Ltd, Melbourne. 46p.
- Rego, S.S.; Nogueira, A.C.; Kuniyoshi Y.S.; Santos, A.F.dos. 2010. Caracterização morfológica do fruto, da semente e do desenvolvimento da plântula de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. e *Myrceugenia gertii*. *Revista Brasileira de Sementes*, 32(3):052-060.
- Retamales, H.A; Cabello. A.; Serra, M.T.S.; Scharaschkin, T. 2014. Anatomical studies of the flower, fruit and seeds of *Myrceugenia rufa* (Myrtaceae). *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural*, 63:89-100.
- Rocha, J.F.; Pimentel, R.R.; Machado, S.R. 2011. Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. *Acta Botanica Brasilica* 25(4): 751-763.
- Souza, A.; Oliveira, T.; Mattietto, R.; Nascimento, W.; Lopes, A. 2017. Bioactive compounds in the peel of camu-camu genotypes from Embrapa's active germplasm bank. *Food Science and Technologic*, Campinas.
- Souza-Filho, A.P.S.; Trezzi, M.M.; Inoue, M.M. 2011. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas como atividade Alelopática. *Planta Daninha*, 29(3):709-716.

Tropicos.org. 2018. (<http://www.tropicos.org/NameSynonyms.aspx?nameid=22103034>)

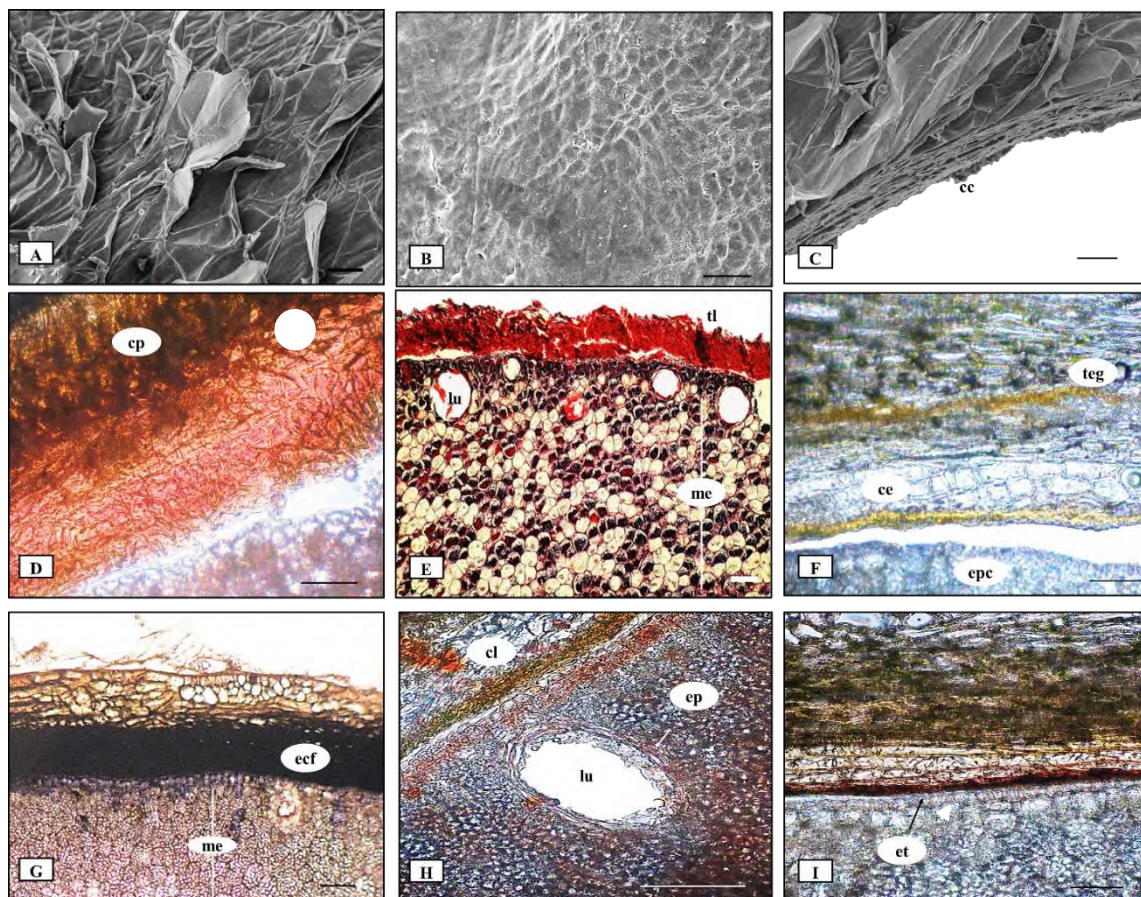
Acesso em 08 de janeiro de 2018.

Werker, E. 1997. *Seed anatomy*. Gebrüder Borntraeger, Berlin. 424p.

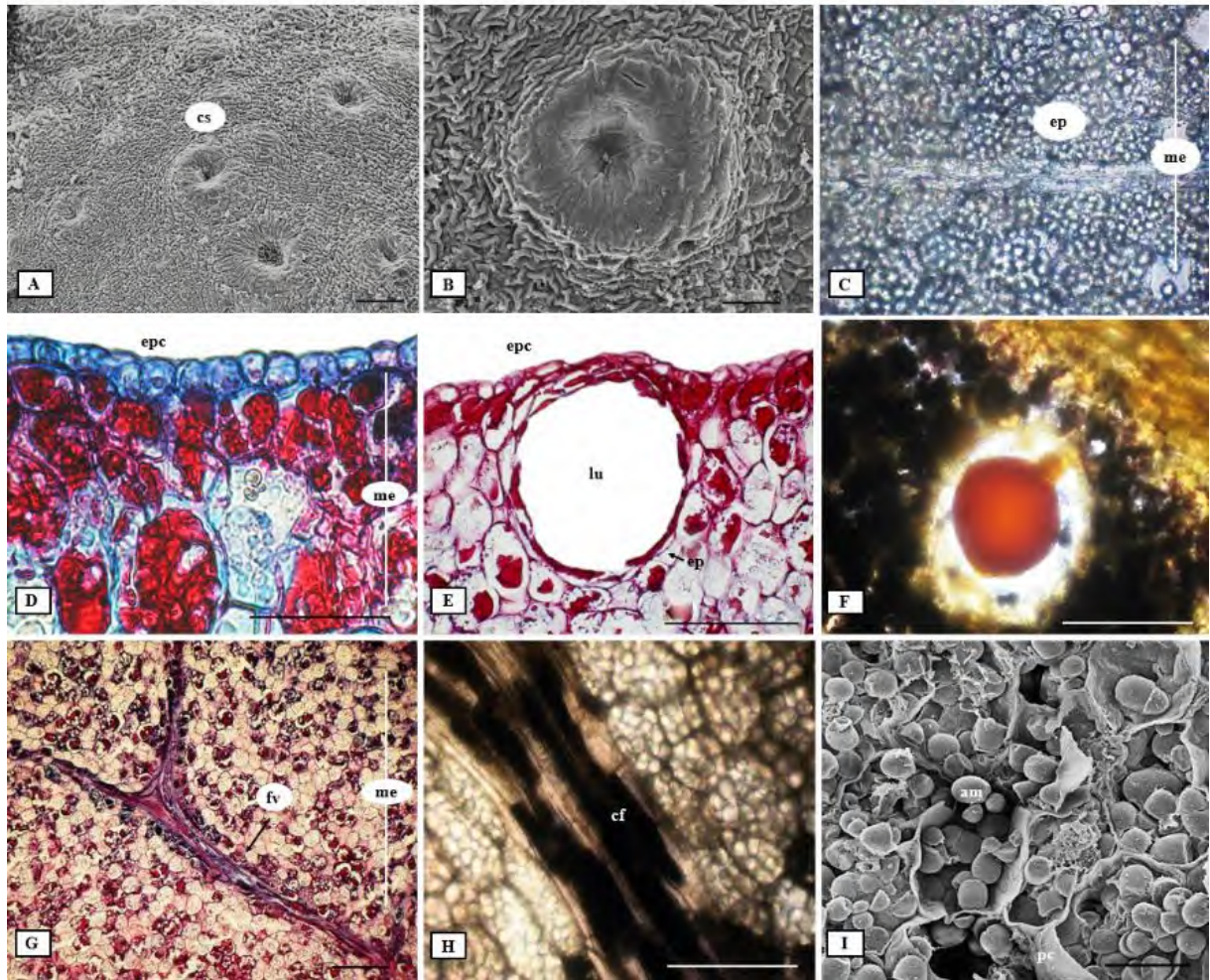
Yazawa, K.; Suga, K.; Honma, A.; Shirosaki, M.; Koyama, T. 2011. Anti-inflammatory effects of seeds of the tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 57(1): 104-107.

Zanatta, C. F.; Cuevas, E.; Bobbio, F. O; Winterhalter, P.; Mercadante, A. Z. 2005. Determination Of Anthocyanins From Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) By Hplc-Pda, Hplc-Ms, And Nmr *J. Agricultural Food and Chemistry*. 53: 9531-9535.

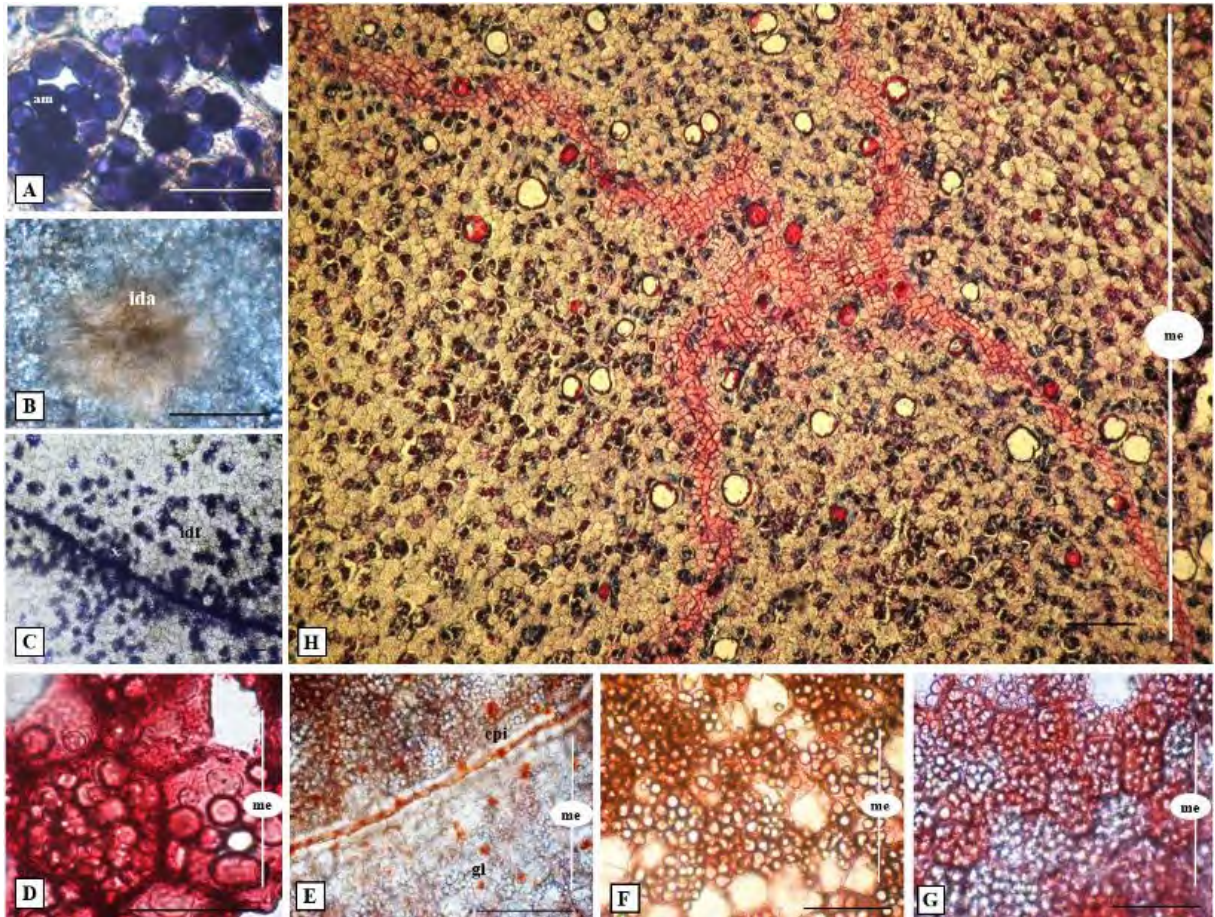
Zanatta, C. F. e Mercadante, A. Z. 2007. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 10(4), 1526-1532.



**Figura 1.** Tegumento de sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh em secções longitudinais Fig 1A e 1B e secção transversal Fig 1C em MEV e Fig 1D-I em secções transversais em microscopia eletrônica de luz. 1A-superfície externa do tegumento, 1B-tegumento interno, 1C- parênquima subepidérmico do tegumento, 1D- reação positiva para pectinas, 1E-tegumento lignificado, 1F-tegumento sem coloração, 1G-reação positiva para compostos fenólicos, 1H-reação positiva para lipídios totais, 1I-reação positiva para terpenos. Legenda: cc-camadas de células; ce-células espessadas; cl-camada lipídica; cp-células paliádicas; ct-células tabulares; ecf-estrato com compostos fenólicos; ep-epitélio; et-estrato com terpenos; lu-lúmen; ma-mesocarpo aderido; tg-tegumento; tl-tegumento lignificado; me-mesofilo. Barra: 1A-C, E-50 $\mu$ m; 1D; 1F; 1I-100 $\mu$ m; 1G-20 $\mu$ m e 1H-30 $\mu$ m.



**Figura 2.** Cotilédones de sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh em secções longitudinais em MEV, fig 2A, 2B e 2I e em microscopia eletrônica de luz, fig. 2D, 2G secções longitudinais, as demais são secções transversais. 2A-região da protuberância, 2B-detalle do cavidade secretora da protuberância, 2C-mesofilo cotiledonar sem reagente, 2D-epiderme unisseriada, 2E-detalle do lúmen, 2F-detalle do exsudado de alcaloide no lúmen, 2G-feixes vasculares do mesofilo cotiledonar, 2H-ducto secretor com compostos fenólicos no mesofilo cotiledonar, 2I-grãos de amidos nos amiloplastos. Legenda: am-amido; cf-compostos fenólicos; cs-cavidade secretora; ep-epitélio; epc-epiderme cotiledonar; fv-feixe vascular; lu-lúmen; mc-mesofilo cotiledonar; pc-parede celular. Barra: 2B-20 $\mu$ m; 2I- 30 $\mu$ m; 2A, 2E, 2F, 2H -50 $\mu$ m e 2D, 2C, 2G -100 $\mu$ m



**Figura 3.** Cotilédones de sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh em microscopia eletrônica de luz, fig. 3G secção longitudinal, as demais são secções transversais. 3A-reação positiva para o teste lugol, 3B-idioblastos com terpeno no mesofilo cotiledonar, 3C-mesofilo cotiledonar com idioblastos fenólicos, 3D-reação positiva para vermelho de rutênio, 3E-gotículas lipídicas no mesofilo cotiledonar e na epiderme interna dos cotilédones, 3F-reação positiva para alcaloides no mesofilo cotiledonar, 3G-reação positiva para proteínas no mesofilo cotiledonar, 3H-aspécto geral do eixo embrionário. Legenda: am-amido; epi-epiderme interna dos cotilédones; gl-gotículas lipídicas; ida-idioblastos com alcaloides; idf-idioblastos fenólicos; mc-mesofilo cotiledonar. Barra: 3A, 3D, 3F-50 $\mu$ m e 3B, 3C, 3E, 3G, 3H-100 $\mu$ m



#### 4. CONCLUSÕES GERAIS

A caracterização de frutos, sementes, estruturas presentes nas etapas do desenvolvimento pós-seminal e plântulas de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh são úteis e confiáveis para a identificação da espécie e compreensão da sua germinação.

Existe ampla variabilidade biométrica entre os clones avaliados, com elevado potencial genético.

Nas condições estabelecidas, o clone CPATU 2 apresentou os melhores resultados com destaque para a porcentagem de polpa, porcentagem de germinação e sementes mais vigorosas.

As características anatômicas encontradas na espécie estudada são semelhantes às de outras Myrtaceae.

Foram encontradas os três principais tipos de reserva nutritiva nas sementes.

A determinação da localização dos metabólitos secundários no tegumento, pode auxiliar estudos posteriores, com o objetivo de isolar essas substâncias.