



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**JOÃO ALVES FERREIRA PEREIRA**

**MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE SEMENTES EM  
DESENVOLVIMENTO DE *Euterpe oleracea* Mart. (ARECACEAE)**

**FORTALEZA  
2017**

JOÃO ALVES FERREIRA PEREIRA

MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE SEMENTES EM DESENVOLVIMENTO  
DE *Euterpe oleracea* Mart. (ARECACEAE)

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Agronomia/Fitotecnia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia, Bioquímica e Biotecnologia vegetal.

Orientador: Francisco A. P. Campos

FORTALEZA  
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- P492m Pereira, João Alves Ferreira.  
Morfoanatomia e histoquímica de sementes em desenvolvimento de *Euterpe oleracea* Mart.  
(ARECACEAE) / João Alves Ferreira Pereira. – 2017.  
68 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2017.  
Orientação: Prof. Dr. Francisco de Assis de Paiva Campos.
1. Palmeiras. 2. Açaí. 3. Embriogênese. 4. Endosperma. 5. Acúmulo de Reservas. I. Título.

CDD 630

---

JOÃO ALVES FERREIRA PEREIRA

MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE SEMENTES EM DESENVOLVIMENTO  
DE *Euterpe oleracea* Mart. (ARECACEAE)

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Agronomia/Fitotecnia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia, Bioquímica e Biotecnologia vegetal.

Orientador: Francisco A. de P. Campos

Aprovado em: 14/07/2017

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Francisco de Assis de Paiva Campos  
Universidade Federal do Ceará – UFC  
Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular  
Orientador

---

Prof. Antônio Marcos Esmeraldo Bezerra  
Universidade Federal do Ceará – UFC  
Departamento de Fitotecnia  
Membro interno

---

Prof. Ítalo Antônio Cotta Coutinho  
Universidade Federal do Ceará – UFC  
Departamento de Biologia  
Membro externo

## DEDICO

À minha **mãe**, aos meus **amigos** e **familiares** que contribuíram de forma direta e indireta para que tudo isso pudesse ser alcançado.

Aos meus sobrinhos de coração **Joana** e **Vinícius**.

Às minhas avós **Odete Bezerra** e **Amara Josefa**, e minha tia **Dulcinéia**. (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

A **Universidade Federal do Ceará** e ao **Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia**, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Aos **professores** dos PPG em Agronomia/Fitotecnia e PPG em Bioquímica, que contribuíram de forma direta e indiretamente para minha formação no curso de mestrado.

À **CAPES**, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. **Francisco de Assis de Paiva Campos**, pela orientação e oportunidade de realização da pesquisa, para conclusão dessa etapa acadêmica.

À Dra. **Emanoella Lima Soares**, pelas orientações iniciais nas técnicas e nos procedimentos para realização da pesquisa e nas orientações durante a escrita e preparo do projeto de qualificação bem como dissertação, muito obrigado.

À Profa. Dra. **Alerte Aparecida Soares**, pela disponibilidade do uso da infraestrutura e equipamentos do Laboratório de Anatomia e Morfologia Vegetal para execução da pesquisa e a rica contribuição oferecida, durante as análises dos dados obtidos e na minha formação em Anatomia Vegetal.

Aos professores participantes da banca examinadora Prof. Dr. **Antonio Marcos Esmeraldo Bezerra** e Prof. Dr. **Ítalo Antônio Cotta Coutinho** pela disponibilidade para participar da banca, do tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao técnico de laboratório **Robson de Jesus Mendes**, pelo auxílio e direcionamento nas etapas anatômicas e histoquímicas do trabalho.

À minha mãe, **Benita Ferreira**, por todo ENSINAMENTO e EDUCAÇÃO que uma mãe dedicada, batalhadora e esforçada, poderia fazer de tudo para oferecer ao seu filho. Muito obrigado e eu te amo!

Um agradecimento especial a **Tatiana, Andreza Raquel e Magda Laiara**, as primeiras pessoas que me abriram as portas aqui em Fortaleza. Muito agradecido por tudo!

Aos **colegas** dos cursos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pelas horas compartilhadas durante as aulas e atividades do curso, de forma direta e indireta.

Aos colegas do laboratório de Biologia Molecular de Plantas (BIOPLANT): **Magda, Manu, Fabiano, Roberto, Raquel, Moab, Domingos, Jéssica, Evanildo e Taís**, que dividiram comigo boa parte do tempo, na convivência e na parceria nas coletas, condução do trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia e Morfologia Vegetal: **Karina, Hellen, Clemir, Ana, Isabella, Lucy, Karolina e Marília**, pelas conversas e compartilhamentos durante os dias de atividade no laboratório.

Especialmente à Profa. Dra. **Cláudia Ulisses**, minha ex-orientadora, pelas oportunidades, oferecendo-me ensinamentos e confiança. Meu muito obrigado por me apresentar a pesquisa acadêmica e os primeiros ensinamentos sobre botânica e anatomia vegetal, a qual tenho grande paixão!

Às Dra. **Lília Willadino** e Dra. **Terezinha Rangel**, pelos ensinamentos e conselhos que carrego comigo até hoje e a oportunidade de realização de estágio no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV/UFRPE) por três anos, onde obtive um bom crescimento profissional e pessoal, Muito Obrigado.

Aos meus amigos do LCTV/UFRPE, em especial a **Wellington, Lais, Marina e Fernando**. Que após de seguirmos novos caminhos, continuamos amigos presentes mesmo na distância. A **Luciana Herculano** um agradecimento de coração por conviver, aguentar e aceitar minhas chatices todos os dias durante esse último ano do mestrado.

Aos meus amigos: **Elayse, Diego, Hygor, Marcela, Vanessa, Keyla, Diógenes, Cida, Aninha, Eduardo e Drielson**, com toda distância existente sempre vivem na torcida positiva para que eu pudesse alcançar meus objetivos. E tantos outros amigos que a vida me ofereceu.

Em especial a uma família de coração que sou muito grato em tê-los comigo, a todos da família **Patrício**. Em especial à **Nancy, Rodrigo, Amanda, Andreia e meus sobrinhos: Joana e Vinicius que tanto amo**.

Ao meu companheiro, **Antônio Wesley**, que tenho imensa satisfação de tê-lo ao meu lado todos os dias, me dando coragem, estímulo, força, amor, carinho e companheirismo com muita dedicação para eu possa alcançar meus objetivos. Muito obrigado.

**De alguma forma todos que estão aqui e tantos outros que não estão, porém contribuíram para que isso pudesse acontecer.**

**Segundo Vinicius Nicéias: “Estudar é fortalecer as asas para voar”. Então que possamos sempre voar e sempre cada vez mais alto!**

**Meus sinceros agradecimentos!!!**

## RESUMO

Este estudo teve o objetivo de caracterizar anatômica e histoquímicamente o óvulo, semente em desenvolvimento, endosperma e o embrião da *Euterpe oleracea* Mart. Foram coletadas flores antes e após a fecundação além de frutos em diferentes estádios de desenvolvimento, selecionados a partir do diâmetro da semente e dos parâmetros morfológicos: coloração do pericarpo e resistência da semente ao corte da lâmina de estilete. As coletas dos materiais biológicos foram feitas na Taíba, um distrito do município de São Gonçalo do Amarante - CE. Os diferentes estádios de botão floral e sementes, foram submetidos a análises histológicas e histoquímica por microscopia de luz. Durante a análise anatômica foi possível identificar e classificar as diferentes estruturas a saber: O óvulo é hemianátropo; bitegumentado com diferenciação apenas na região da micrópila. O tegumento externo é mais espesso que o interno e a placentação é do tipo axilar com presença de paquicalaza, além da presença de feixes vasculares por toda região do tegumento externo. No desenvolvimento inicial o endosperma do açaí é do tipo nuclear tornando-se com o passar do seu desenvolvimento celularizado, com o espessamento da parede celular, rico em pontuações primárias, formado por células multidimensionais e multiformes e grandes em relação às células do tegumento; O desenvolvimento embrionário é do tipo onagráceo ou crucífero passando pelos estágios de desenvolvimento de: proembrião, globular, coração lateral e torpedo. Durante o seu desenvolvimento; O embrião maduro é cônico de diminuto tamanho; com duas partes distintas: distal (haustório) e a proximal (pecíolo cotiledonar) constituída de um meristema oblíquo, um eixo radicular não diferenciado além de um eixo apical imerso na cavidade cotiledonar. As análises Histoquímicas das lâminas permitiu identificar: A região proximal, é rica em idioblastos contendo ráfides e compostos fenólicos. Amido foi evidenciado na coloração negra próxima as regiões dos meristemas; lipídeos com colocação laranja, proteínas em vermelho, pectinas e polissacarídeos de reserva da parede celular com coloração roxeada, constituem as moléculas de reserva no endosperma da espécie. Este é o primeiro estudo a descrever detalhadamente as estruturas do óvulo, do embrião zigótico, assim como a formação e desenvolvimento do endosperma do *Euterpe oleracea* Mart. Este trabalho fornece subsídios de base para futuros estudos nas áreas da biologia reprodutiva, anatomia e morfologia vegetal, bioquímica e diversas áreas da agronomia como a tecnologia de sementes.

**Palavras-chaves:** Palmeiras. Açaí. Embriogênese. Endosperma. Acúmulo de reservas.

## ABSTRACT

The objective of this study was to characterize anatomically and histochemically the egg, the development stages of seeds, endosperm and the embryo of the *Euterpe oleracea* Mart. Flowers were collected before and after fertilization, fruits were collected at different stages of development, according to seed diameter and some morphological parameters: pericarp color and seed resistance against the cut of a stiletto blade. The biologic material were collected at Taíba, a district of São Gonçalo do Amarante - CE. All the different stages of floral bud and seeds were submitted to a histological and histochemical analysis through light microscopy. During the anatomical analysis it was possible to identify and classify the different structures namely: The ovule is hemianotropic, with differentiation only in the region of the micropyle. The outer tegument is thicker than the inner one and the placentation is of the axillary type with presence of paucicellular, besides the presence of vascular bundles throughout the region of the external tegument. In the initial development the açai endosperm is of the nuclear type becoming with the passage of its cellular development, with thickening of the cellular wall, rich in primary scores, formed by multidimensional cells and multiform and large in relation to the cells of the integument, the embryonic development is onagráceo or cruciferous type with the embryo stages of development: proembryo, globular, lateral heart and torpedo. During development the mature embryo has a small and conical shape; with two distinct parts: distal (haustory) and proximal (cotyledonary petiole) which holds an oblique meristem, an undifferentiated root axis and the apical axis immersed in the cotyledonary cavity. Histochemical analysis of the slides allowed to identify: The proximal region is rich in idioblasts containing rafides and phenolic compounds. Starch was evidenced by black color near the meristem regions. Lipids in orange color, Proteins in red, Pectins and Reserve Polysaccharides from Cell Wall in purple, these are reserve molecules in the endosperm of this specie. This is the first detailed study that describes the egg structures of the zygote embryo as well as the formation and development of *Euterpe oleracea* Mart endosperm. This study provides background subsidies for future studies in the areas of reproductive biology, Anatomy, plant morphology, biochemistry and various areas of agronomy as seed technology. This study of reproductive biology, anatomy and plant morphology, biochemistry and various areas of agronomy as seed technology.

**Keywords:** Palm trees. Açai. Embryogenesis. Endosperm. Accumulation of reserves.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do desenvolvimento do óvulo de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	16
Figura 2 - Localização da área de estudo.	24
Figura 3 - Anatomia do ovário de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	39
Figura 4 - Anatomia do óvulo de <i>Euterpe Oleracea</i> Mart.	30
Figura 5 - Esquema representativo das estruturas do óvulo de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	31
Figura 6 - Anatomia do saco embrionário de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	33
Figura 7 - Embriogênese em <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	35
Figura 8 - Anatomia do desenvolvimento inicial do endosperma de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	37
Figura 9 - Anatomia do desenvolvimento final do endosperma de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	38
Figura 10 - Desenvolvimento morfológico da semente de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	40
Figura 11 - Anatomia do desenvolvimento da semente de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	41
Figura 12 - Teste xilidine ponceau para detecção de proteínas no desenvolvimento do endosperma de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	43
Figura 13 - Teste vermelho de rutênio para detecção de pectinas no desenvolvimento do endosperma de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	44
Figura 14 - Teste Ácido Periodico/Schiff (PAS) para detecção de polissacarídeos neutros nos estádios E6.	46
Figura 15 - Teste Ácido Periodico/Schiff (PAS) para detecção de polissacarídeos neutros nos estádios E7, E9 e E11.	47
Figura 16 - Teste sudam III e lugol para detecção de lipídeos totais e amido.	49
Figura 17 - Teste cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos no desenvolvimento da semente de <i>Euterpe oleracea</i> Mart..	50

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Descrição morfológica dos estádios de desenvolvimento das sementes 23  
de *Euterpe oleracea* Mart., selecionadas para estudo anatômico
- Tabela 2 - Compostos orgânicos estudados em tecidos das sementes em 26  
desenvolvimento do *E. oleracea* (açai) e substâncias utilizadas na sua  
detecção (reagente), bem como a cor esperada das células após reação  
positiva com o corante.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	15
2.1	RUDIMENTO SEMINAL	15
2.2	FORMAÇÃO DE SEMENTES	17
2.3	ARECACEAE: CONSIDERAÇÕES GERAIS	18
2.4	AÇAÍ ( <i>Euterpe oleracea</i> MART.): CONSIDERAÇÕES GERAIS	19
2.5	ESTUDOS ANATÔMICOS NA FAMÍLIA ARECACEAE	20
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	22
3.1	OBJETIVO GERAL	22
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	23
4.1	MATERIAL VEGETAL E LOCALIZAÇÃO DO ESTUDO	23
4.2	ANÁLISE ANATÔMICA POR MEIO DE MICROSCOPIA DE LUZ	25
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	27
5.1	OVÁRIO	27
5.2	RUDIMENTO SEMINAL	27
5.3	EMBRIOGÊNESE	32
5.4	FORMAÇÃO DO ENDOSPERMA	36
5.5	FORMAÇÃO DO REVESTIMENTO	39
5.6	HISTOQUÍMICA DO DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE	42
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	52
6.1	OVÁRIO	52
6.2	RUDIMENTO SEMINAL	52
6.3	EMBRIOGÊNESE	54
6.4	FORMAÇÃO DO ENDOSPERMA	54
6.5	FORMAÇÃO DO REVESTIMENTO	55
6.6	HISTOQUÍMICA DO DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE	56
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	60
	<b>REFERÊNCIAS</b>	61

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, principalmente na Amazônia, a família Arecaceae é representada por 39 gêneros e um número de espécies estimado entre 150 e 180 (HENDERSON, et al., 1995; KAHN; DE GRANVILLE 1997; SOUZA; LORENZI, 2008). É possível encontrar sete espécies dentro do gênero *Euterpe* Mart., (*E. oleracea* Mart., *E. precatoria* var. *precatória* Mart., *E. precatoria* var. *olngevaginata* Mart., *E. catinga* var. *catinga* Mart., *E. catinga* var. *roraimae* Mart. e *E. longibracteata* Mart.) (HENDERSON; GALEANO, 1996).

O *E. oleracea* (açai) é uma espécie encontrada em vários estados do país, na região Norte (Acre, Amazonas e Pará) e no Nordeste (Maranhão) onde é conhecida pelo nome popular de juçara por semelhança com outra espécie de palmeira. Essa espécie apresenta uma grande importância econômica para os agricultores extrativistas dessas regiões, devido às diversas formas de utilizações, tais como: fonte alimentar, fabricação de cosméticos e bijuterias artesanais.

Nos anos 60, com a elevada extração de palmito obtido de *E. edulis* na região sul do Brasil, *E. oleracea* surgiu como uma possível substituta para a mesma (NOGUEIRA; NOMMA, 1998), Anteriormente, *E. oleracea* era vista somente para o fornecimento de frutos e a partir daí tornou-se uma das maiores fontes de palmito do Brasil, bem como fonte de matéria prima para as indústrias de papel e celulose (LOPES, et al., 1982).

Genovese-Marcomini et al. (2013) relata que as sementes são o principal meio de propagação e estabelecimento de espécies de palmeiras e que podem ser usadas na produção de energia e produção de briquetes. Assim, para a produção de espécies de palmeiras é essencial compreender a morfologia e a anatomia dos órgãos vegetativos e reprodutivos das espécies. Além disso, a caracterização morfoanatômica da flor é importante, pois, permite observar os tecidos que a compõem, e assim compreender o processo de formação do fruto e semente.

Estudos anatômicos já foram realizados com as espécies *E. precatoria*, *E. eduli* e *E. oleracea*, (AGUIAR; MENDONÇA, 2003; PANZA et al., 2004; GONÇALVES, 2010) onde eles descrevem anatomicamente os órgãos vegetativos com seus respectivos tecidos. No entanto até o presente momento não foi encontrado nenhum estudo da caracterização do gineceu, culminando com o desenvolvimento do fruto e da semente,

bem como o desenvolvimento do embrião zigótico. Há apenas estudos que relatam as características do embrião maduro dentro do gênero estudado (AGUIAR; MENDONÇA, 2002), tão pouco é existente com o desenvolvimento do endosperma.

O detalhamento dos tecidos que compõem o óvulo, bem como compreensão das mudanças que culminam com a formação da semente com foco no desenvolvimento embrionário e do endosperma de *Euterpe oleracea* é fundamental, pois alguns questionamentos ainda permanecem na lacuna do conhecimento para tal espécie, tais como: Como estão organizados os tecidos que compõem os óvulos? Quais as mudanças nos tecidos do óvulo durante a formação da semente? Como ocorre o desenvolvimento embrionário? Como ocorre o desenvolvimento do endosperma? Qual a natureza química das substâncias armazenadas no endosperma durante o desenvolvimento da semente?

Portanto, a caracterização morfoanatômica da flor de *E. oleracea* irá elucidar os processos de formação da semente, proporcionando informações que servirão como base para estudos ontogenéticos, ecológicos, taxonômicos e da biologia floral da espécie. O conhecimento que constitui a formação do tecido de reserva para nutrição do embrião, o que levará a formação da plântula quando em fase de germinação. Assim, informações nessa área do conhecimento, em especial de *E. oleracea*, possibilitarão o entendimento dessas estruturas.

Sendo assim, este trabalho visa o detalhamento do desenvolvimento da semente juntamente com o do embrião de *E. oleracea* em diferentes estágios de desenvolvimento para melhor compreensão das mudanças que ocorrem para formação de suas partes constituintes.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

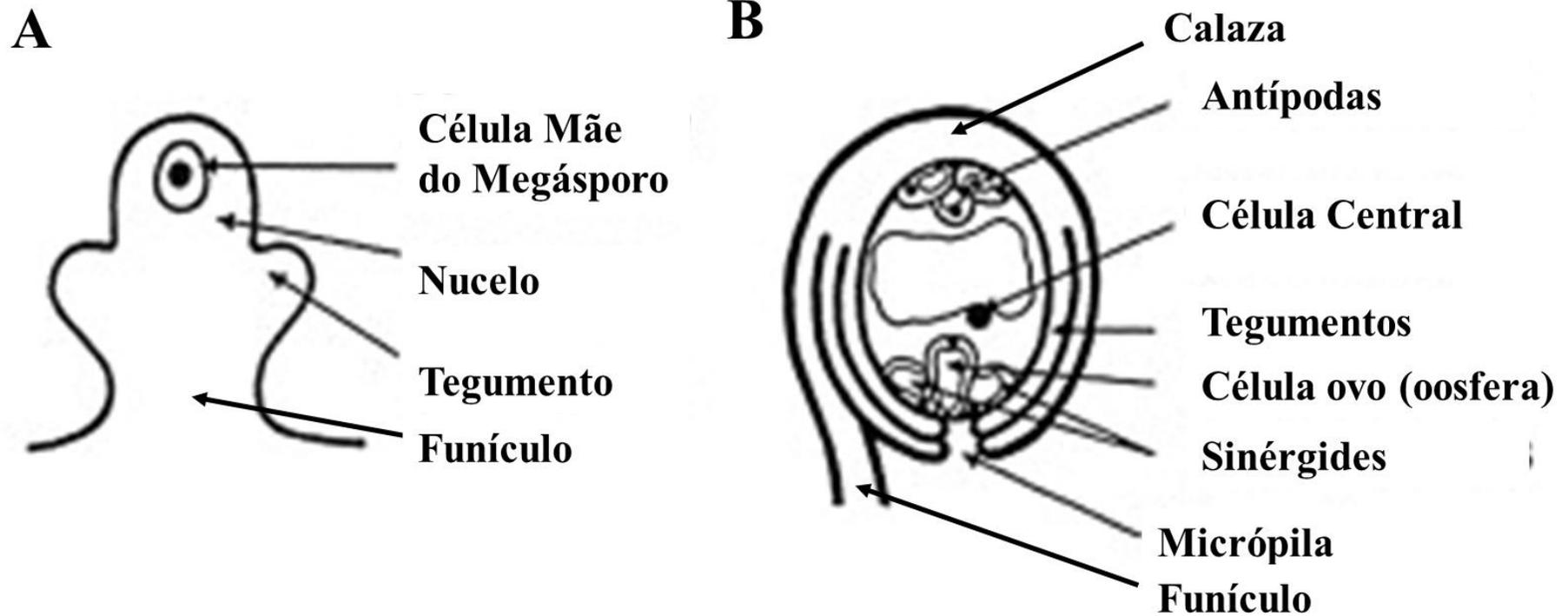
### 2.1 RUDIMENTO SEMINAL

O rudimento seminal é gametófito feminino das Spermatophyta, que é constituído por seis partes: funículo, calaza, tegumentos, micrópila, nucelo e saco embrionário. Inicialmente são encontradas apenas três dessas partes (Fig. 1A), o funículo que conecta o óvulo à placenta e sua base à calaza, região que dará origem aos tegumentos e o nucelo onde irá ocorrer a diferenciação da célula germinativa que posteriormente formará o saco embrionário (Fig. 1A) (SIH e XANG, 2011).

Na maioria das angiospermas o desenvolvimento dos óvulos ocorre bem antes da polinização e fecundação, porém algumas espécies pertencentes à família Orchidaceae, apresentam o desenvolvimento dos óvulos após ocorrer à polinização ou sendo na polinização pouco desenvolvidos (TSAI et al., 2008).

Os óvulos podem ser bitegumentado, unitegumentado e ategumentando; apresentando dois, um ou nenhum tegumento, respectivamente (COLOMBO et al., 2008). Liu e Zhang (2004), afirmam que a maioria das angiospermas basais são bitegumentadas e as que apresentam unitegumento são provenientes de uma evolução independente das angiospermas. O tegumento interno forma-se antes do externo, bem adjacente ao nucelo dando uma proteção inicial para o saco embrionário, porém em algumas espécies esse desenvolvimento pode ser simultâneo (SIEBER et al., 2004). O desenvolvimento dos tegumentos interno e externo irá ser limitado formando uma abertura chamada de micrópila, por onde o tubo polínico desenvolvido irá penetrar para realizar a fertilização (ZOU et al, 2016; TSAI et al., 2008).

O saco embrionário tem o início de sua formação a partir da diferenciação da célula arqueosporial no nucelo, a qual é facilmente identificada devido o seu tamanho e por estar situada na camada abaixo da epiderme nucelar (SOARES, 2015; ZOU et al., 2016).



**Figura 1:** Representação esquemática do desenvolvimento do óvulo de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **A.** Esquema do início da formação do óvulo. **B.** Esquema do óvulo completo com todas as células constituinte do saco embrionário. Adaptado de: GE et al., (2010).

A célula arqueosporial ou célula mãe do megásporo ( $2n$ ) sofre duas meioses formando quatro megásporos haploides ( $n$ ), sendo que três desses se degeneram para formação do megásporo funcional, que passa por três mitoses, onde se dá a formação de sete células e oito núcleos, dando assim origem ao saco embrionário completo (Fig. 1B), o mesmo é constituído por: uma célula gamética (oosfera), duas sinérgides, três antípodas e uma célula central com dois núcleos (YANG et al., 2016; GE et al., 2010).

## 2.2 FORMAÇÃO DA SEMENTE

Após o processo de fertilização dupla das angiospermas, diversas modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas ocorrem nos tecidos do óvulo para levar a formação da semente, nas angiospermas, as sementes são estruturas formadas a partir da fertilização dupla do óvulo. A fecundação da oosfera com um dos núcleos espermáticos oriundos do grão de pólen dá origem ao zigoto ( $2n$ ) que após sucessivas divisões celulares formará o embrião zigótico; a outra fecundação será realizada pelo outro núcleo espermático do grão de pólen, juntamente com os núcleos polares da célula média do saco embrionário, dando origem a célula mãe do endosperma ( $3n$ ) que sofrerá divisões mitóticas e formará o tecido nutritivo. Dessa forma, as sementes são formadas por três partes: revestimento da semente, embrião zigótico e endosperma (LIMA, 2017; SOARES, 2015; CHEUNG et al., 2010).

O revestimento das sementes é composto pela tegma e pela testa, que são originados através das modificações sofridas pelos tegumentos interno e externo após a fertilização (SOUZA, 2009), esse revestimento é responsável pela proteção do embrião durante suas etapas de desenvolvimento, também regula a entrada e saída de água e sais minerais para ativação do processo germinativo da plântula em desenvolvimento (LIMA, 2017).

O embrião zigótico é formado através de diversas divisões mitóticas oriunda do zigoto, tendo um princípio de polaridade na primeira divisão formando duas células. A célula basal dá origem ao suspensor, parte do embrião nas fases iniciais de desenvolvimento que fornece os principais nutrientes e hormônios para o desenvolvimento do embrião a partir da conexão com a planta mãe. Já a célula apical dará origem ao embrião propriamente dito, que será responsável pela formação da nova plântula e com o desenvolvimento da mesma formará a nova planta (SOUZA, 2009).

O endosperma se formará através de divisões mitóticas da célula tri-nucleada, inicialmente ele poderá ser nuclear, onde vários núcleos triploides estarão embebidos no citoplasma denso da célula central que ocupa a cavidade central da semente (SOUZA, 2009). Posteriormente esse endosperma nuclear passará pelo processo de celularização (formação da parede celular) e assim criando limites entre as células adjacentes. Porém em algumas espécies o endosperma poderá ser encontrado nos dois tipos (nuclear e celularizada), como exemplo temos o *cocos nucifera* (HACCIUS e PHILIP, 1979).

### 2.3 ARECACEAE: CONSIDERAÇÕES GERAIS

A família Arecaceae é composta por plantas conhecidas popularmente como palmeiras, a qual possui 236 gêneros e 3.400 espécies distribuídas por todo o mundo, no Brasil até a Argentina e o Paraguai (HENDERSON, et al., 1995; JOLY, 1998; SOUZA; LORENZI, 2008). No território brasileiro principalmente na Amazônia esta família é representada por 39 gêneros e um número de espécies estimado entre 150 e 180 (HENDERSON, et al., 1995; KAHN; DE GRANVILLE 1997, SOUZA; LORENZI, 2008).

A família Arecaceae já é estudada há bastante tempo (TOMLINSON, 1960, 1990; DRANSFIELD, 2008). Porém, apenas cinco espécies são consideradas domesticadas: a arequeira (*Areca catechu* L.), o coqueiro (*Cocos nucifera* L.), o dendezeiro (*Elaeis guineenses* Jacq.), a tamareira (*Phoenix dactylefera* L.) e a pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) (SOUZA; LORENZI, 2008).

As palmeiras se destacam dentre os produtos florestais não madeireiros amplamente usados por populações tradicionais por terem importância ecológica e potencial econômico, principalmente em relação à alimentação, medicamentos e construção (SILVA; OLIVEIRA; PENA, 2014). Como por exemplo: os frutos: o coco, o coco-da-Bahia e o indaiá que são comestíveis *in natura* ou usados na fabricação de compotas; o coco-da-Bahia que utiliza-se as fibras que são usadas na substituição do xaxim; O palmito, tem desde o uso do palmito como do seu fruto que tem polpa comestível, óleos, cera e vinho e também por constituírem elementos de grande valor paisagísticos para arborização urbana, por apresentar diversidade de formas, cores e tamanhos das folhas, beneficiando harmonicamente e a qualidade do meio ambiente (GOMES-SILVA, et al., 2004; MIGUEL, 2007).

## 2.4 AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.): CONSIDERAÇÕES GERAIS

O açaí (*Euterpe oleracea*) começou a ganhar uma maior atenção a partir do ano de 1966, devido à procura de espécies que pudessem substituir e suprir a demanda de palmitos por causa da elevada extração de palmito da *E. edulis* Mart. na região sul do país (NOGUEIRA; HOMMA, 1998). Anteriormente esta espécie só era vista para obtenção e fornecimento de frutos e assim tornando-se uma das maiores fontes de palmito do Brasil, bem como fonte de matéria prima para as indústrias de papel e celulose (LOPES, et al. 1982).

Em 2006 as áreas com açaizeiros produtivos estavam na faixa de um milhão de hectares, por apresentarem frutos com coloração arroxeada, seu sabor único e não adocicado, de onde desperta o interesse pelos consumidores mundialmente, tendo-se uma necessidade de mão-de-obra exigente que é praticamente realizado por agricultores familiares de forma extrativista, esse extrativismo no Brasil está em cerca de 80% e o restante correspondente a açaizais manejados (BRASIL, 2006).

Segundo dados da Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura (PEVS), o Brasil produziu em 2010, aproximadamente, 706 mil toneladas e 2015 foi de 1 milhão toneladas do fruto de açaí (CONAB, 2017). Desses frutos são extraídos o vinho, polpa ou simplesmente açaí, como é conhecido nas regiões do Brasil, com o açaí são fabricados sorvetes, licores, doces, néctares e geleias, podendo ser aproveitado, também, para a extração de corantes e antocianina (BRASIL, 2006).

Aproximadamente 85% do peso total dos frutos são resíduos após a extração de sua polpa. Desta forma, o açaí pode gerar um grande volume residual de sua extração, sendo este resíduo constituído pela semente com suas fibras e o mesmo vem ocasionando graves problemas ambientais para as populações das cidades produtoras de açaí por serem descartados em locais não adequados (RODRIGUES et al., 2006).

Silva et al. (2016), relataram que a utilização dos biocombustíveis em forma de peletes energéticos (caroços de açaí), como fonte energética na Amazônia e particularmente no Estado do Pará, apresenta-se com viabilidade de utilização, promovendo uma solução aos problemas de falta ou escassez de energia elétrica, inclusive nas atividades domésticas; de panificadores industriais e demais indústrias que utilizam lenha. Dessa forma, a utilização de caroços de açaí como fonte energética pode promover a inserção social da população local e aumentar a geração de emprego e renda nos elos de sua cadeia produtiva, promovendo

também a equidade de gênero, além de garantir a sustentabilidade das gerações futuras (BRASIL, 2006).

Melhorança Filho e Pereira (2012), afirmam que o uso de óleo extraídos das sementes de açaí tem ação antimicrobiana apresentando efeito inibitório frente à *Staphylococcus aureus* (Rosenbach, 1884). Contudo, nem todos os resíduos gerados da produção e extração de polpa de açaí recebem um destino adequado e ideal, em 2014 chegou a ser cerca de 168,4 mil toneladas de sementes. Que recebendo um destino ideal poderá fornecer uma nova fonte de renda a todos os produtores de açaí no Brasil (SILVA, 2016).

## 2.5 ESTUDOS ANATÔMICOS EM ARECACEAE

Em especial o estudo das flores femininas nos permite a observação dados para apoiar obras em Ecologia e Fisiologia vegetal e outras áreas afins. Tendo em vista que as sementes são o principal meio de propagação e estabelecimento de espécies de palmeiras, é essencial compreender a morfologia e a anatomia dos órgãos reprodutivos da planta. A caracterização morfoanatômica da flor permite observar os tecidos que o compõem, e que compreendem a formação do fruto e semente. (GENOVESE-MARCOMINI et al., 2013).

Algumas macromoléculas essenciais à vida como proteínas, lipídios, carboidratos e nucleotídeos são encontradas em diversos tipos de tecidos, porém alguns deles podem ser armazenados em alguns tecidos específicos para o acúmulo de substâncias, como exemplo o endosperma. Nas palmeiras algumas dessas macromoléculas são encontradas em forma de reserva no endosperma: Proteínas e lipídios são encontrados em *Euterpe edulis* Mart. (PANZA et al. 2004), *Euterpe oleraceae* Mart. (GONÇALVES et al., 2010), *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (MOURA et al., 2010) e *Bactris gasipaes* (Kunth) L. H. Bailey (NAZÁRIO et al., 2013). Carboidratos podem estar armazenados nas paredes espessadas das células endospermáticas (PANZA et al., 2004; MOURA et al., 2010; NAZÁRIO et al., 2013). Alguns compostos foram detectados excepcionalmente, como o amido no eixo embrionário de *Elaeis guineensis* Jacq. (DE MASON, 1988 apud RODRIGUES, 2015). Já as pectinas que são polissacarídeos componentes da parede celular, quando encontradas no conteúdo celular, pode ser resultado de alterações de sua estrutura, para ocorrência de translocação da mesma a partir da parede celular, constituindo um gel rígido (TAIZ; ZEIGER, 2013), que é possivelmente metabolizado durante a germinação do

embrião (BUCKERIDGE et al., 2000). Entretanto, ainda do ponto de vista anatômico, com exceção de algumas espécies de importância comercial, pouco se conhece sobre ontogenia de várias palmáceas. (OLIVEIRA, 2010).

Rodrigues et al., (2015) ao estudar os aspectos biométricos, morfoanatômicos e histoquímicos do pirênio de *Bactris maraja* verificou que mesmo com tantos dados obtidos era ainda necessário um estudo de ontogenia, a fim de elucidar a origem e o processo de desenvolvimento dos envoltórios da semente.

Diversos estudos anatômicos já foram realizados com as espécies: *E. precatória*, *E. eduli* e *E. oleracea*, (AGUIAR; MENDONÇA, 2003; PANZA et al., 2004; GONÇALVES, 2010) onde eles descrevem anatomicamente os tecidos e órgãos das espécies, porém ainda não é encontrado um estudo detalhado do desenvolvimento da semente, nem das partes que a compõe, muito menos do desenvolvimento do embrião zigótico, só existem estudos relatando apenas as características do embrião maduro.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Estudar anatomicamente sementes em desenvolvimento de *Euterpe oleracea* Mart.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

3.2.1 – Caracterizar histologicamente o óvulo e o saco embrionário de *E. oleracea*.

3.2.2 – Descrever histologicamente o desenvolvimento do embrião de *E. oleracea*.

3.2.3 – Caracterizar histologicamente o desenvolvimento do endosperma de *E. oleracea*.

3.2.4 – Identificar a natureza química das reservas durante o desenvolvimento do endosperma.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL VEGETAL E LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

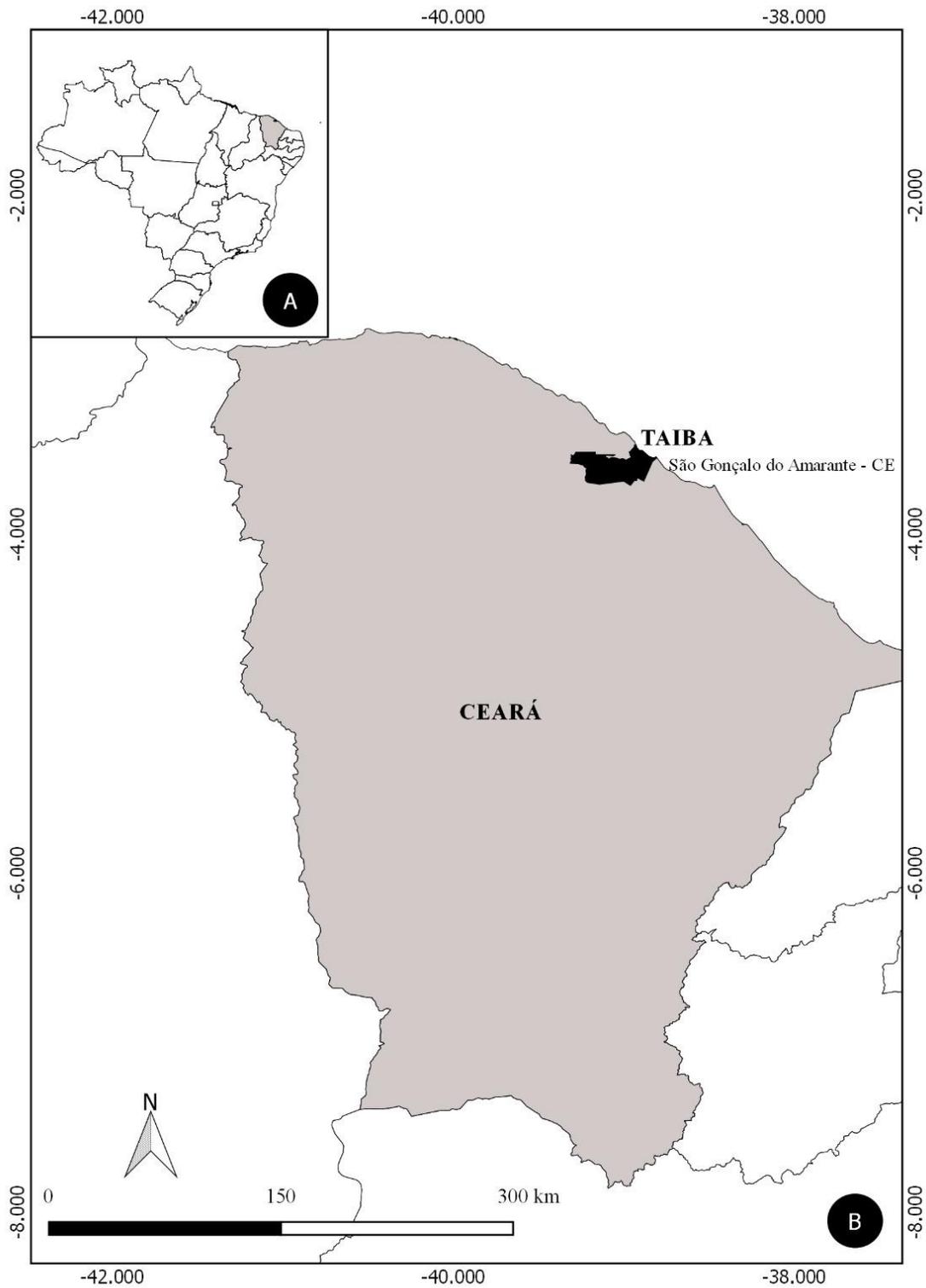
Botões florais e frutos em diferentes estádios de desenvolvimento foram coletados com base no comprimento e na coloração dos estigmas e diâmetro do pericarpo, respectivamente (Tabela 1). As amostras foram coletadas no distrito de Taíba, na cidade de São Gonçalo do Amarante – CE, cerca de 500 metros ao redor do ponto (3°30'19,9"S; 38°54'31,7"W; Figura 1) e foram conduzidas para o Laboratório de Biologia Molecular de Plantas no Departamento de Biologia e Bioquímica para processamento, onde foram removidos os verticilos protetores (cálice e corola) nos botões florais e o pericarpo nos frutos.

**Tabela 1:** Descrição morfológica dos estádios de desenvolvimento da semente de *Euterpe oleracea* Mart., selecionadas para estudo anatômico.

ESTÁDIOS	TAMANHO MÉDIO (mm)	ASPECTOS MORFOLÓGICOS
BF1	0,2*	BOTÃO PRÉ-ANTESE COM ESTIGMA ARROXEADO
BF2	0,3*	BOTÃO PRÉ-ANTESE COM ESTIGMA ARROXEADO
BF3	0,4*	BOTÃO PÓS-ANTESE COM ESTIGMA ARROXEADO
E1	2,0**	BOTÃO COM ESTIGMA PRETO, SECO E COM OVÁRIO ENTUMECIDO (FERTILIZADO)
E2	4,5**	PERICARPO VERDE BRILHOSO
E3	5,5**	PERICARPO VERDE BRILHOSO
E4	6,5**	PERICARPO VERDE BRILHOSO
E5	7,5**	PERICARPO VERDE BRILHOSO
E6	9,0**	PERICARPO VERDE BRILHOSO
E7	>10,0**	PERICARPO VERDE BRILHOSO
E8	>10,0**	PERICARPO VERDE OPACO E SEMENTE SEM RESISTÊNCIA AO CORTE
E9	>10,0**	PERICARPO VERDE OPACO E SEMENTE COM RESISTÊNCIA AO CORTE
E10	>10,0**	PERICARPO EM TRANSIÇÃO DE VERDE PARA ROXO
E11 (Maduro)	>10,0**	PERICARPO ROXO

\* Comprimento médio do botão floral; \*\* Diâmetro médio do fruto.

Fonte: Elaborado pelo o autor.



**Figura 2:** Localização da área de estudo. **A.** Brasil (Estado do Ceará em cinza); **B.** Município de São Gonçalo do Amarante, distrito de Taíba (negro), onde foram coletados os botões florais e os frutos de *Euterpe oleracea* Mart.

Fonte: Elaborado pelo o autor.

## 4.2 ESTUDO ANATÔMICO

Para caracterização estrutural, amostras de botões florais e sementes em desenvolvimento foram fixadas em solução contendo glutaraldeído 1%; formaldeído 4% em tampão fosfato (KARNOVSKY, 1965, modificado) por 48 horas sob vácuo. Após a fixação, as amostras foram lavadas por cinco vezes por três minutos cada lavagem em tampão fosfato de sódio 0,2M, pH 7,2. Posteriormente foram submetidas a uma desidratação crescente etanólica (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%) por 1 hora cada, e logo em seguida incluídos em resina plástica do tipo glicol-metacrilato de acordo com manual do fabricante (Historesina, Leica).

Após a inclusão os blocos foram seccionados em micrótomo rotatório de avanço automático (Leica® RM 2065), com auxílio de uma navalha de tungstênio e obtidas secções de 5 µm de espessura para todos os estágios, transversal e longitudinalmente. As secções foram coradas com azul de toluidina 0,05% em bórax 0,12% por 10 minutos e, em seguida, fucsina básica 0,05% por 1 minuto (JUNQUEIRA, 1990). Testes histoquímicos (Tabela 2) foram realizados em quatro estágios de desenvolvimento da semente de *E. oleracea*, estádios E6, E7, E9 e E11, pré-selecionados com base no espessamento da parede celular do endosperma e na concentração de conteúdo citoplasmático nos resultados da análise estrutural.

As lâminas foram montadas em Tissue Mount (Tissue-TEK) e os resultados registrados com câmera fotográfica (HP Photosmart R967) acoplada na ocular de um microscópio óptico (Leica® DM4000 com sistema digital de captura de imagens).

**Tabela 2:** Testes histoquímicos utilizados para detecção da natureza química dos compostos orgânicos estudados em tecidos de sementes de *E. oleracea* (açai) bem como as respectivas cores esperadas para reações positivas.

Substância Orgânica	Reagente	Coloração	Referência
Amido	Lugol	Azul-negro a marrom avermelhado	Johansen (1940)
Proteínas	Xilidine Ponceau	Laranja-avermelhado	O'brien e Mccully (1981)
Lípídeos totais	Sudam III	Vermelho-alaranjado	Brundett et al., (1991)
Pectinas	Vermelho de rutênio	Vermelho escuro ou róseo	Johansen (1940)
Compostos fenólicos	Cloreto Férrico	Azul enegrecido	Gabe (1968)
Polissacarídeos neutros	Ácido Periodico/Schiff (PAS)	Roxo	O'brien e Mccully (1981)

Fonte: Elaborado pelo o autor.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 OVÁRIO

O ovário de *Euterpe oleracea* é súpero, unicarpelar, unilocular e uniovular (Fig. 3A). O estigma é apical, regular. O mesofilo ovariano apresenta duas regiões distintas, com epidermes uniseriada e células justapostas, o tecido próximo a epiderme externa tem cerca de 10 camadas de células pequenas e com características meristemática (C1), já o próximo a epiderme interna apresenta cerca de 10-12 camadas de células mais volumosas comparadas com a camada adjacente (C2) (Fig. 3B), tendo presença de feixes vasculares por todo tecido ovariano periférico ao óvulo, que se originam do receptáculo (Figura 3C) e vão até a região do funículo (Fig. 3D). Na região apical do botão floral próximo ao estigma o tecido apresenta células maiores comparadas com as células da base, sem presença de feixes vasculares e possuem idioblastos (Fig. 3E).

### 5.2 RUDIMENTO SEMINAL

O óvulo de *E. oleracea* é bitegumentado, hemianátropo com placentação axilar, e ocupa quase toda região do lóculo (Fig. 4A). O funículo é curto e facilmente visualizado próximo a região da placentação e calaza no tegumento externo, o qual faz a conexão dos cordões de procâmbio oriundos da base do botão floral (Fig. 4A). Feixes vasculares são observados por toda extensão do tegumento externo, eles penetram pelo funículo e são distribuídos até a região da calaza, de onde se ramifica para o tegumento externo de forma horizontal e vertical dando origem a paquicalaza (Fig. 4A).

Na região da calaza é facilmente encontrada a presença de uma hipóstase, que se distribui por todo o tegumento interno (Fig. 4A). A micrópila é facilmente encontrada, pois, está localizada na região oposta a calaza, formada pela abertura dos tegumentos internos (endóstoma) e externos (exóstoma), o qual da passagem para penetração do tubo polínico na fecundação (Fig. 4B e 4D).

Os tegumentos externo e interno apresentam-se unidos em um único tecido, se diferenciando apenas na região da micrópila, ambos podem ser facilmente diferenciando de acordo com as características das células que os compõem (Fig. 4A e 4B).

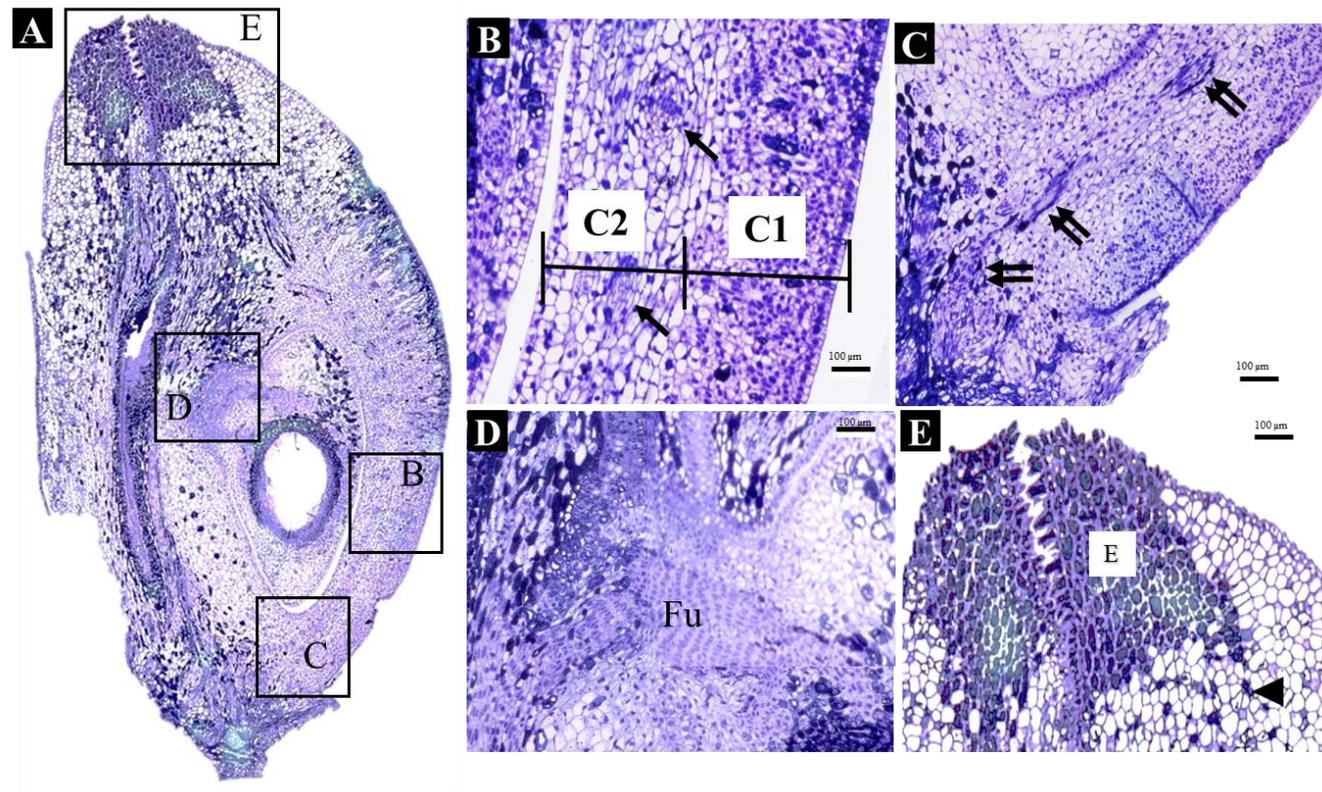
O tegumento externo apresenta-se com células maiores e com núcleos próximos a parede celular delgada (Fig. 3A). Em um região mediana do corte apresenta uma diferença

quanto ao número de camadas que o compõe de acordo com a região a qual esteja sendo observada: na região da micrópila e acima da calaza, o tegumento externo apresenta-se mais espesso com cerca de 20 e 16 camadas de célula, respectivamente, essas camadas vão diminuindo para 8-9 camadas à medida em que se aproxima da posição lateral aos sacos embrionários (Fig. 3A e 3B); na região calazal oposta à região de placentação, encontram-se idioblastos fenólicos (Fig. 3A).

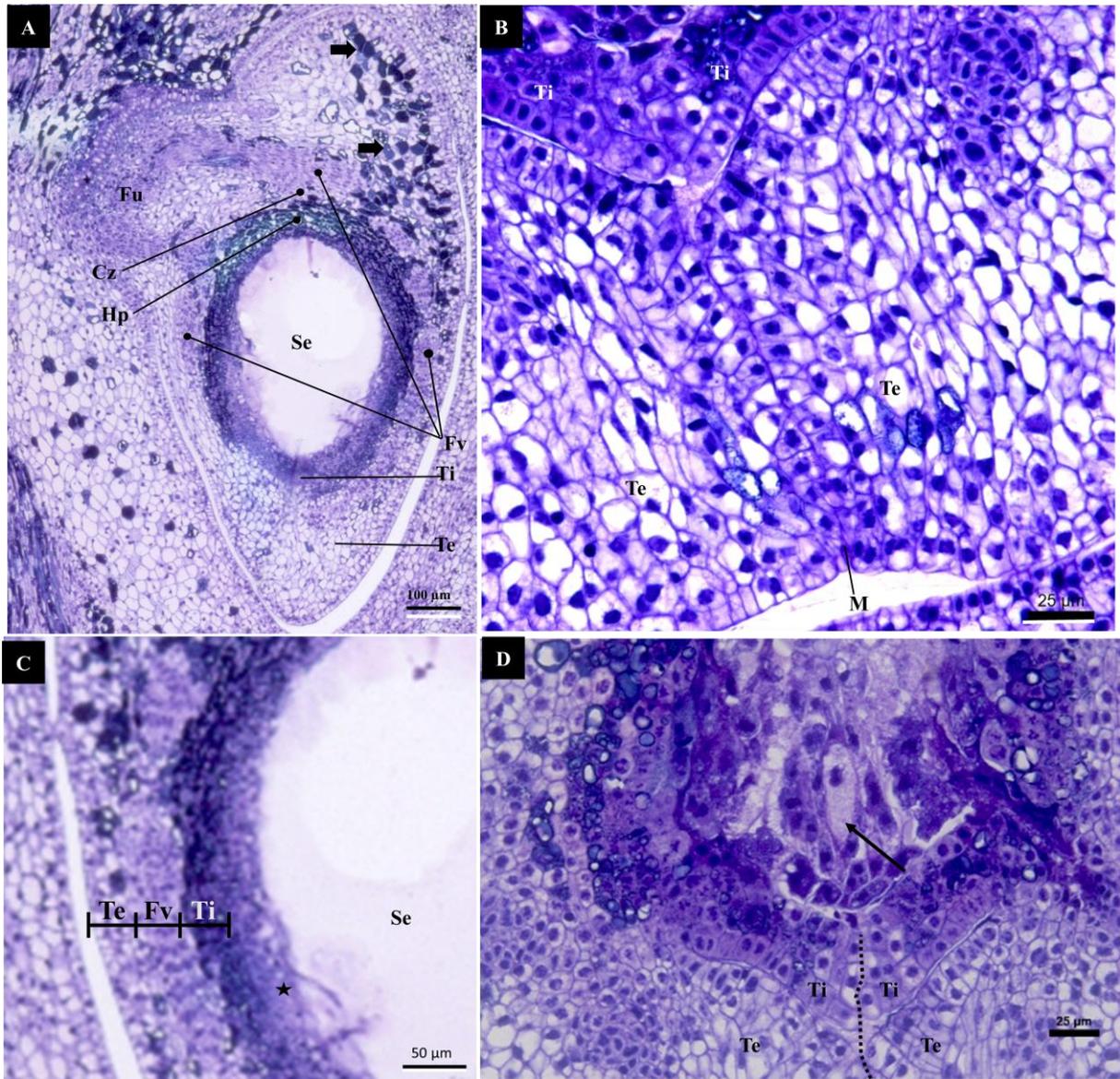
O tegumento interno é composto por 3-4 camadas de células pequenas com citoplasma denso, parede celular delgada e núcleos aparentes com característica meristemática (Figs. 4B e 4C) o qual está limitado pelas células que estão para fase interna dos feixes vasculares encontrados no tecido dos tegumentos (Fig. 4A), acúmulo que pode estar relacionado com origem na hipóstase, ficando apenas a região da micrópila sem a presença de compostos fenólicos.

Os feixes vasculares que são encontrados por toda extensão dos tegumentos, menos na região da micrópila, pode ser considerado uma região de limite entre os dois tipos de tecidos (tegumento interno e externo) apesar de serem justapostos (Fig. 4C).

Todas as estruturas do óvulo de *E. oleracea* podem ser visualizadas no esquema ilustrativo para melhor compreensão e entendimento dos locais ao qual as mesmas se localizam (Fig. 5).

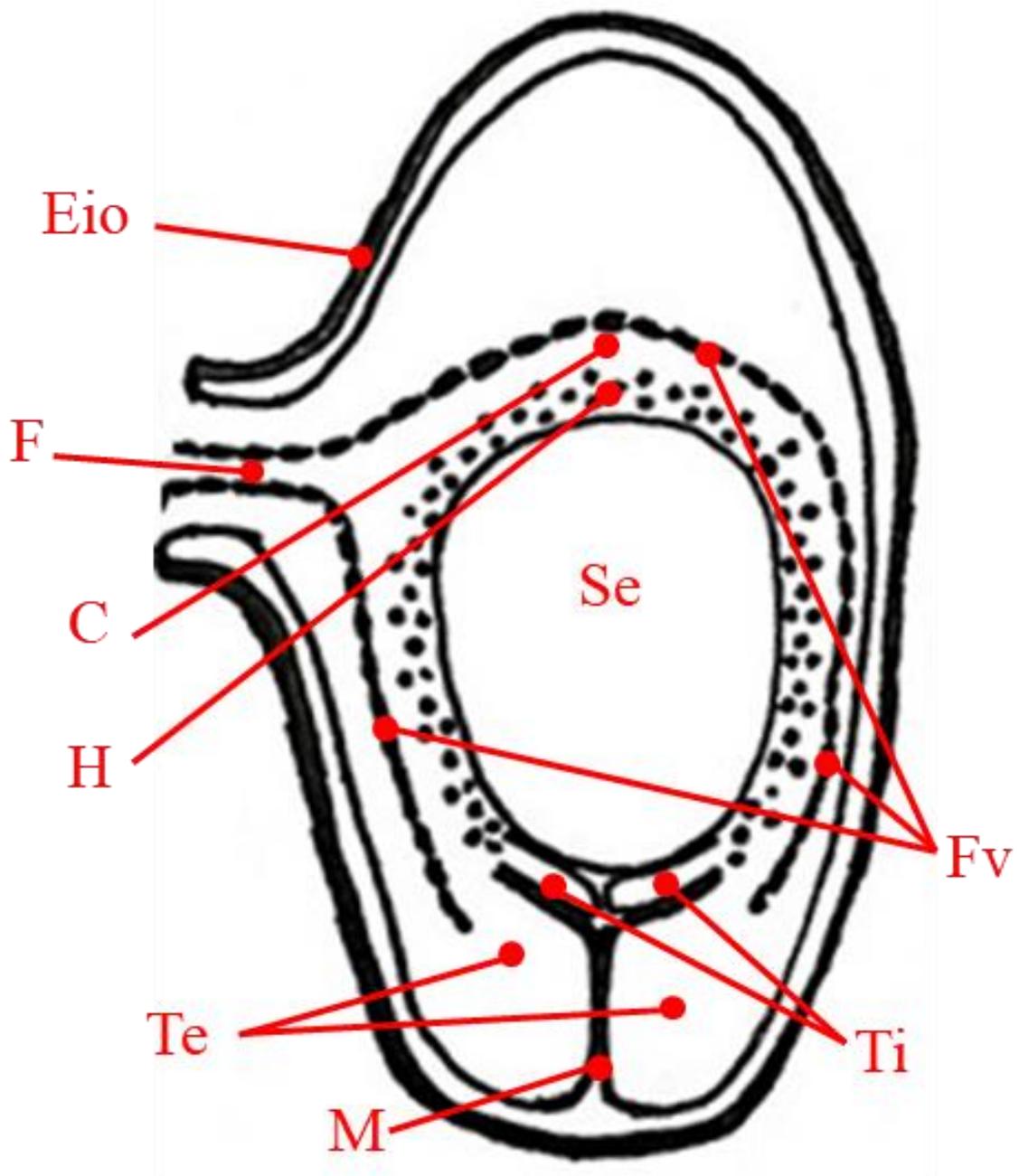


**Figura 3:** Anatomia do ovário de *Euterpe Oleracea* Mart., secções longitudinais. **A.** Visão geral da anatomia do ovário do açai. **B.** Anatomia do mesofilo ovariano. Setas indicam feixes vasculares. **C.** Detalhe do receptáculo, evidenciando a origem dos feixes vasculares (seta dupla) existentes no mesofilo ovariano. **D.** Detalhe da região de placentação, evidenciando células da epiderme interna do ovário. **E.** Detalhe da região do estigma com idioblastos contendo compostos fenólicos (ponta de seta) e nas camadas do mesofilo ovariano. C1, Camada do mesofilo ovariano distal; C2, Camada do mesofilo ovariano proximal; E, Estigma; Fu, Funículo. Fonte: Elaborado pelo o autor.



**Figura 4:** Anatomia do óvulo de *Euterpe Oleracea* Mart.. **A.** Sessão longitudinal do BF3, detalhando todas as partes constituintes do óvulo. Seta evidencia idioblastos com acúmulo de compostos fenólicos. **B.** Sessão longitudinal do óvulo do BF3, evidenciando a região da micrópila (linha tracejada) formada pelas aberturas dos tegumentos externos e internos. **C.** Sessão longitudinal do óvulo evidenciando as três possíveis distintas camadas que compõem a região de união entre os dois tegumentos. Estrela representa a camada de nucelo que persiste após formação do saco embrionário. **D.** Sessão longitudinal do óvulo de BF2, evidenciando a o nucelo do tipo tenuinucelado, com presença da célula arqueosporial do megásporo (seta). Cz, Calaza; Fu, Funículo; Fv, Feixes Vasculares; Hp, Hipóstase; SE, Saco Embrionário; TE, Tegumento Externo; TI, Tegumento Interno.

Fonte: Elaborado pelo o autor.



**Figura 5:** Esquema representativo das estruturas do óvulo de *Euterpe oleracea* Mart. C, Calaza; Fv, Feixes vasculares; F, Funículo; Eio, Epiderme Interna do Ovário; H, Hipóstase; M, Micrópila; Se, Saco Embrionário; Te, Tegumento Externo; Ti, Tegumento Interno.

Fonte: Elaborado pelo o autor.

O saco embrionário de *E. oleracea* forma-se logo abaixo da segunda camada do nucelo após a epiderme nucelar (Fig. 4D), depois de formado algumas células do nucelo ficam entre a epiderme interna do tegumento interno e o saco embrionário (Fig. 4C e 4D). A formação do saco embrionário inicia-se com a célula arqueosporial se desenvolvendo no tecido do nucelo, tornando-se completamente diferenciada das demais: maior que as demais, com presença citoplasma denso (Fig. 4D), na camada de nucelo após a epiderme nucelar.

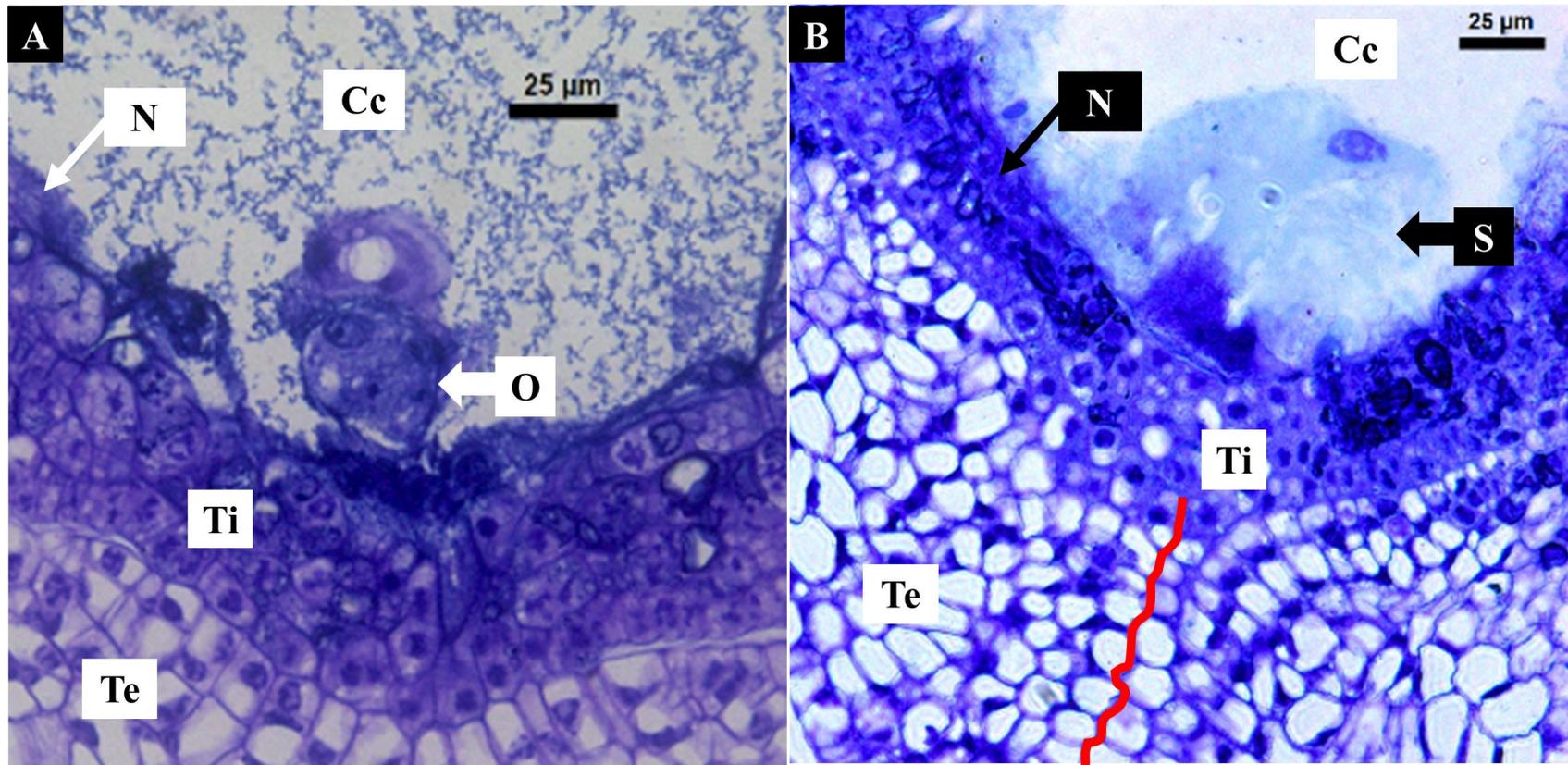
Posterior a esta etapa, a célula arqueosporial sofrer meiose, formando quatro células (n) sendo que posteriormente três delas se degeneram. A célula remanescente irá sofrer sucessivas mitoses e assim formar o saco embrionário da espécie, que tem uma grande área de cavidade central limitando-se pelo tegumento interno (Fig. 4A). Durante esse processo o nucelo será consumido, podendo ainda ser encontrado algumas células nas periferias do saco embrionário e na região da micrópila (Fig. 6A e 6B).

Na região da micrópila é possível encontrar duas sinérgides (Fig. 6A); próxima a elas porém em um outro plano de corte é visto a célula ovo (oosfera), apresentando núcleo parente, citoplasma denso e tamanho diferenciado das demais (Fig. 6B).

### 5.3 EMBRIOGÊNESE

Na fecundação dupla das Angiospermas, o tubo polínico se desenvolve até alcançar a região da micrópila e realizar a liberação de dois núcleos espermáticos; onde um fecundará a oosfera e o outro os núcleos polares. A fecundação da oosfera leva a formação do zigoto que sofrerá sucessivas divisões formando então o embrião.

No estágio de desenvolvimento da semente E1, é possível encontrar o zigoto (Fig. 7A) apresentando indícios da sua primeira divisão periclinal, levando a formação da célula basal e apical. No estágio E2, é possível verificar o proembrião composto por 3 células, onde a célula basal sofreu uma divisão anticlinal (Fig. 7B). No estágio E4, o proembrião possui contendo 10 células, onde é possível identificar divisões tanto da célula basal quanto da apical (Fig. 7C). No E6 o proembrião apresenta por volta de 19 células, com presença de suspensor aderido a uma fina camada de células do nucelo (Fig. 7D).

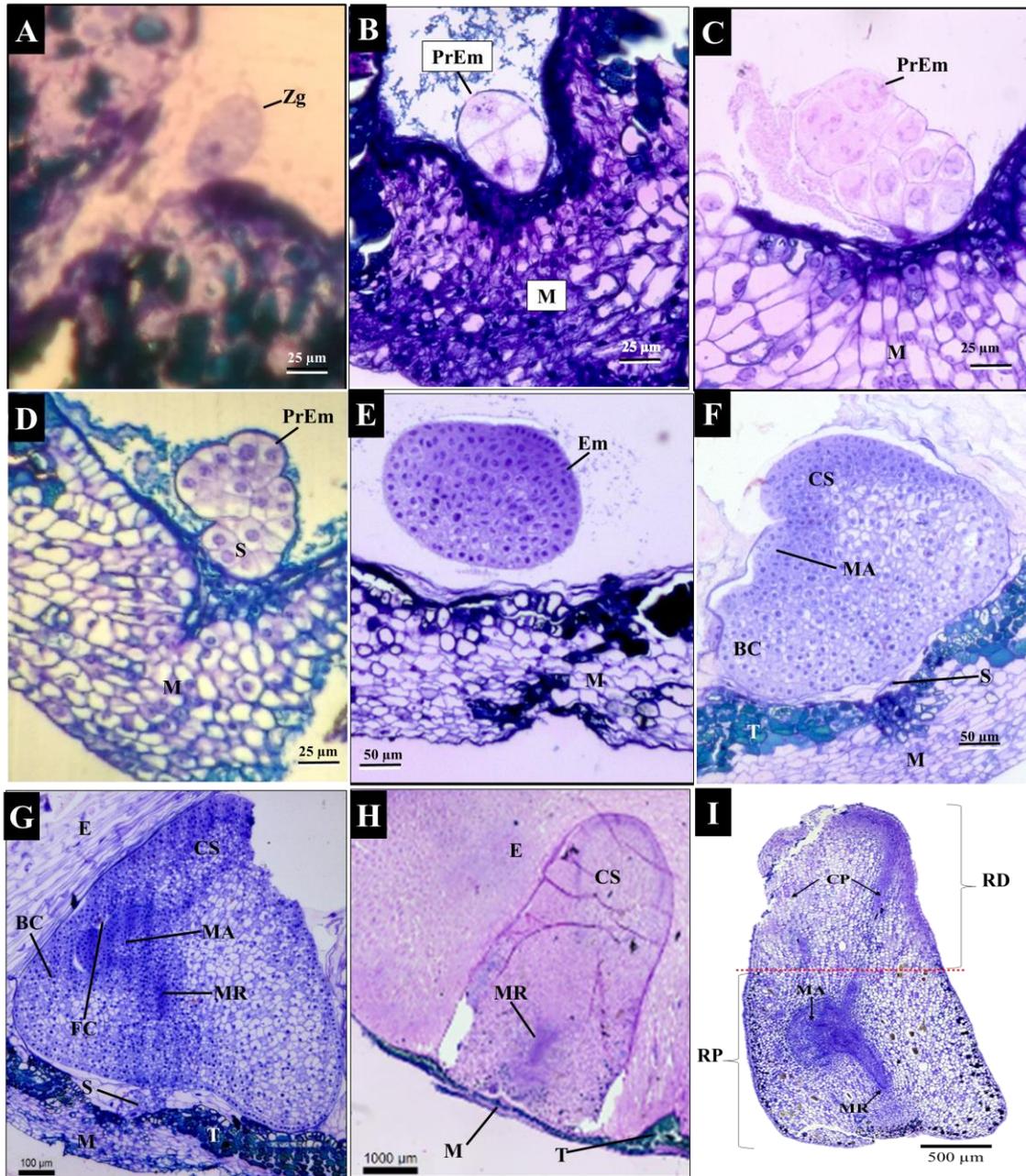


**Figura 6:** Anatomia do saco embrionário de *Euterpe oleracea* Mart.. **A.** Região da micrópila do rudimento seminal (linha vermelha) evidenciando a célula ovo (oosfera). **B.** Região da micrópila do rudimento seminal (linha vermelha) evidenciando uma das sinérgides encontradas no saco embrionário Cc, Cavidade Central; N, Nucelo; Ti, Tegumento interno; Te, Tegumento Externo; S, Sinérgides; O, Oosfera.

Fonte: Elaborado pelo o autor.

No E7, o embrião já está na fase globular (Fig. 7E), no E8 o embrião está numa fase de transição, onde ele começa a apresentar uma região meristemática que dará origem ao meristema apical, com divisões celulares que levará a formação do cotilédone superior da espécie e na região mais próxima do suspensor encontra-se a base cotiledonar (Fig. 7F). No E9 o embrião apresenta-se numa fase inicial da fase torpedo (Fig. 7G), porém não tão desenvolvido, onde o meristema apical já pode ser encontrado dentro cavidade cotiledonar que é formada a partir do desenvolvimento do cotilédone superior até o encontro com a base cotiledonar, também é visto a diferenciação do meristema radicular.

No E10 ambas as estruturas do E9 são visualizadas, porém com um desenvolvimento do cotilédone superior bem avançado, ocupando praticamente a maior porção da cavidade embrionária, com presença de compostos fenólicos na base do pecíolo cotiledonar (Fig. 7H). No E11 (maduro), o embrião é diminuto e cônico (Fig. 7I), ocupa totalmente a cavidade embrionária, com os meristemas radicular e apical desenvolvidos e presença de idioblastos e ráfides, na região do pecíolo cotiledonar, próximos a epiderme e circundando os meristemas, respectivamente (Fig. 7I). O cotilédone superior é bem desenvolvido com presença de feixes de procâmbios e acúmulo de reservas.



**Figura 7:** Embriogênese em *Euterpe oleracea* Mart. em sessões longitudinais. **A.** Detalhe do embrião do E1, evidenciando o zigoto com início da primeira divisão celular. **B.** Detalhe do proembrião do E2, com 3 células evidenciando a primeira divisão da célula basal. **C.** Detalhe do proembrião do E4, contendo 10 células. **D.** Detalhe do proembrião de E6 com 19 células. **E.** Detalhe do embrião do E7 no estágio globular. **F.** Detalhe do embrião do E8 no estágio coração lateral. **G.** Detalhe do embrião do E9 no estágio transitório de coração lateral para torpedo. **H.** Detalhe do embrião do E10 no estágio torpedo, em destaque o suspensor excisado do embrião. **I.** Detalhe do embrião maduro. BC, Base Cotiledonar; CP, Cordões de Procâmbios; CS, Cotilédone Superior; E, Endosperma; Em, Embrião; M, Micrópila; MA, Meristema apical; MR, Meristema Radicular; PrEm, Pró-embrião; RD, Região Distal; RP, Região Proximal; S, Suspensor; T, Tegumento; Zg, Zigoto.  
Fonte: elaborado pelo autor.

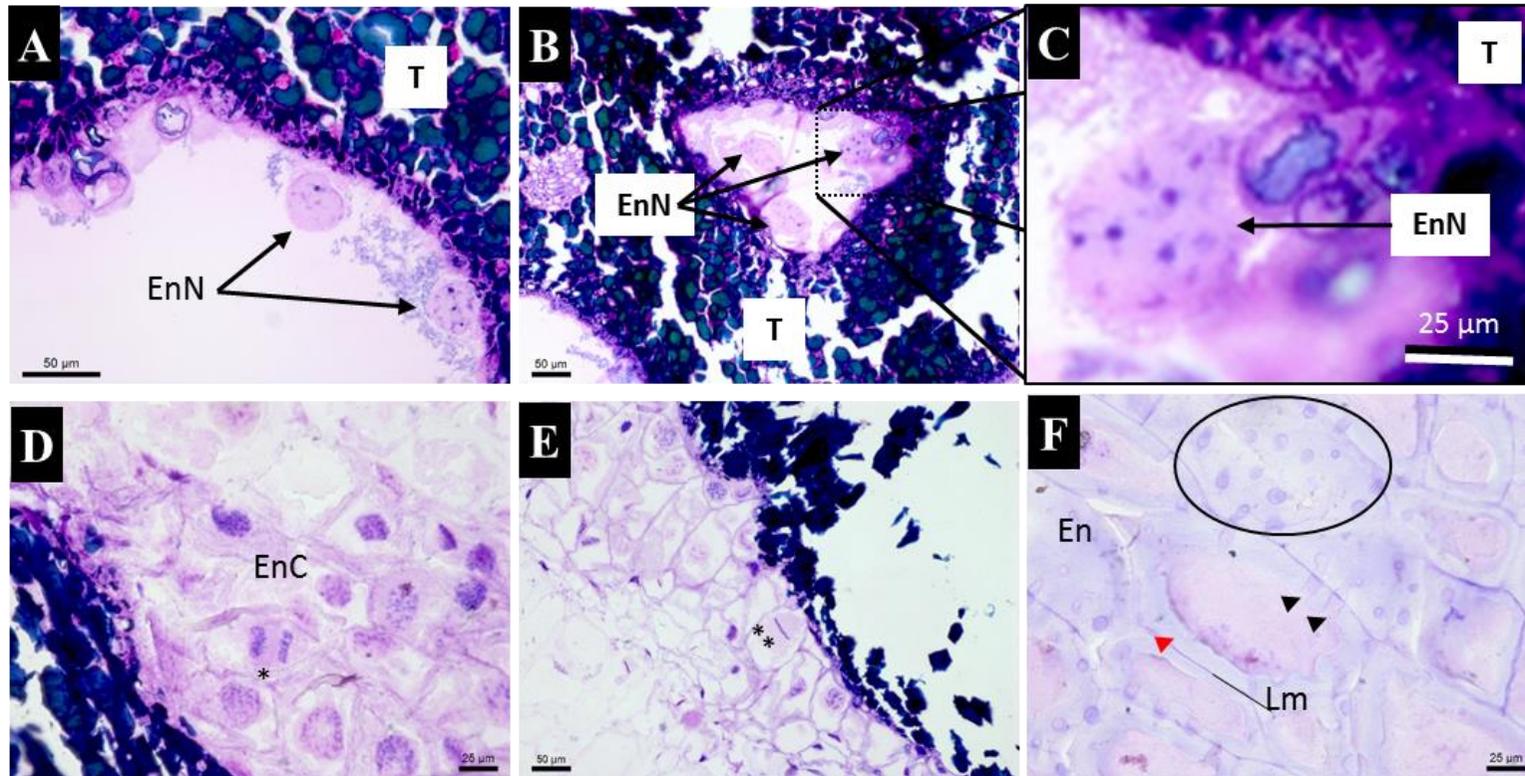
#### 5.4 FORMAÇÃO DO ENDOSPERMA

Nos estádios E1 ao E3 não foi possível evidenciar a presença de endosperma nas análises. No E4 é encontrando um grande número de núcleos isolados adjacentes a parede interna do tegumento (Fig. 8A-C), já morfológicamente é possível verificar a presença de um líquido ao realizar um corte na semente manualmente. No E5, morfológicamente é evidenciado ao realizar um corte manual na semente um endosperma com aspecto gelatinoso, o qual ainda está presente uma fase líquida do endosperma (núcleos livres) e uma fase semissólida.

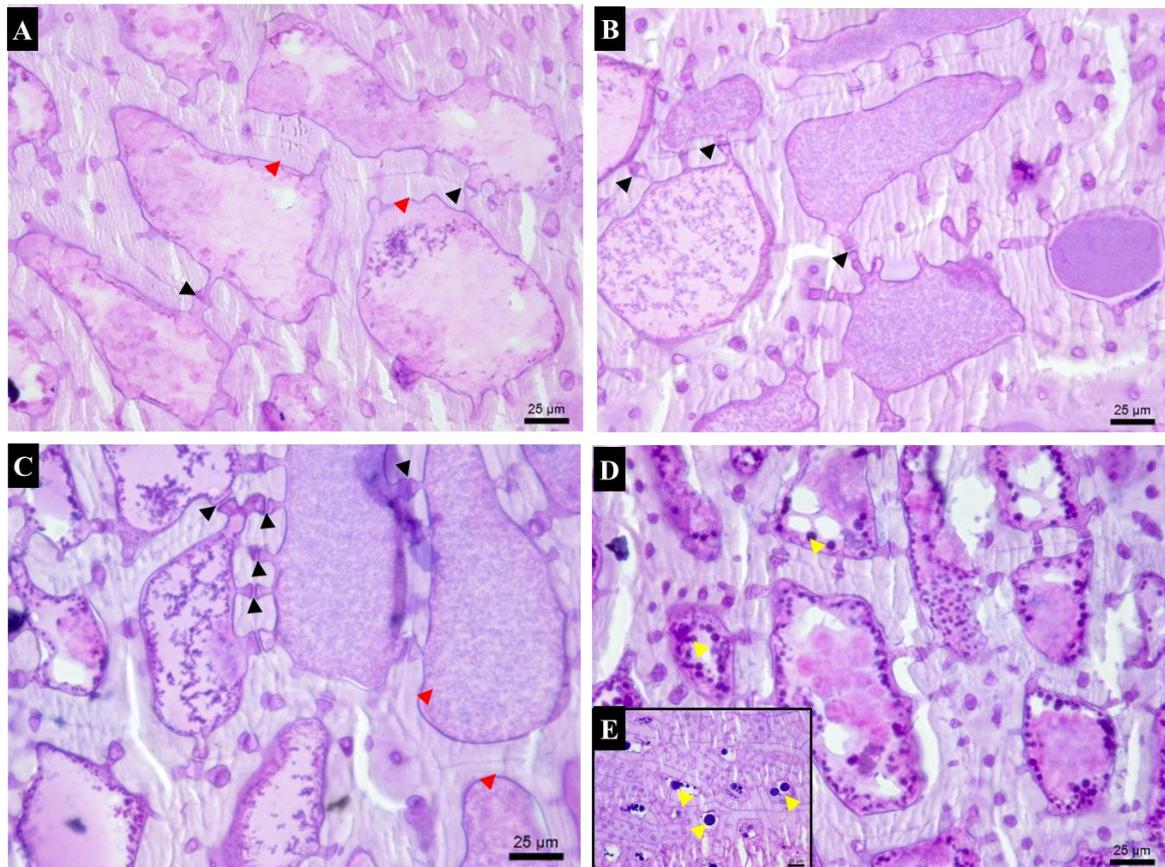
No E6, anatomicamente é possível evidenciar o início da celularização do endosperma, onde o mesmo apresenta-se numa fase gelatinosa na morfologia, sendo semissólido. Neste estágio, a presença de células com paredes delgadas e divisão celular é bastante evidenciada (Fig. 8D e 8E). No E8, o endosperma se encontra completamente celularizado e apresenta espessamento da parede celular na região mais próxima da cavidade central, com presença de vários campos de pontuações primária de plasmodesma, dando indícios de uma alta taxa de atividade metabólica uma vez que há uma grande quantidade desses campos primários de pontuações (Fig. 8F).

No E9, ocorre maior desenvolvimento do endosperma, ocorrendo um maior espessamento da parede (Fig. 9A), dando indícios de que a reserva nutricional da espécie é contida nas paredes celulares. No E10, o endosperma já está com um espessamento bem relevante em relação ao E9 e pode ser visto a presença de reservas nutricionais dentro do citoplasma (Fig. 9B), apresentando inclusões citoplasmáticas de tamanhos bem aparente.

No E11, o endosperma apresenta células com dimensões irregulares, espessamento da parede e ricas em campos primários de pontuações, sendo possível ver um gradiente de inclusões citoplasmáticas (Fig. 9C), referente ao acúmulo de reservas nos citoplasmas das células endospermáticas, onde as células mais próximas do tegumento apresentam uma coloração mais intensa (Fig. 9D), diferente das células da região central da semente que apresentam uma coloração menos intensa (Fig. 9D).



**Figura 8:** Anatomia do desenvolvimento inicial do endosperma de *Euterpe oleracea* Mart. **A e B.** Núcleos livres no estágio E4. **C.** Detalhe do núcleo do endosperma evidenciando os três nucléolos (3n); **D e E.** Visão do endosperma no estágio E6, apresentando celularização das células e presença de divisão celular. (\*) anáfase, (\*\*) metáfase. **F.** Detalhe do endosperma do E8, evidenciando a formação da parede celular (ponta de seta vermelha) e presença de vários campos de pontuações de plasmodesma (ponta de seta preta e círculo). EnN, Endosperma Nuclear; Lm, Lamela média e T, Tegumento. Fonte: Elaborado pelo o autor.



**Figura 9:** Anatomia do desenvolvimento final do endosperma de *Euterpe oleracea* Mart. **A, B e C.** Sessão longitudinal do endosperma do E9, E10 e E11, respectivamente, evidenciando o espessamento da parede celular (ponta de seta vermelha) e presença de campos de pontuações (ponta de seta preta); **D e E.** Sessão longitudinal e transversal do endosperma do E11, respectivamente, evidenciando o acúmulo de substâncias orgânicas dentro do endosperma (ponta de seta amarela), bem com o espessamento da parede.

Fonte: Elaborado pelo autor.

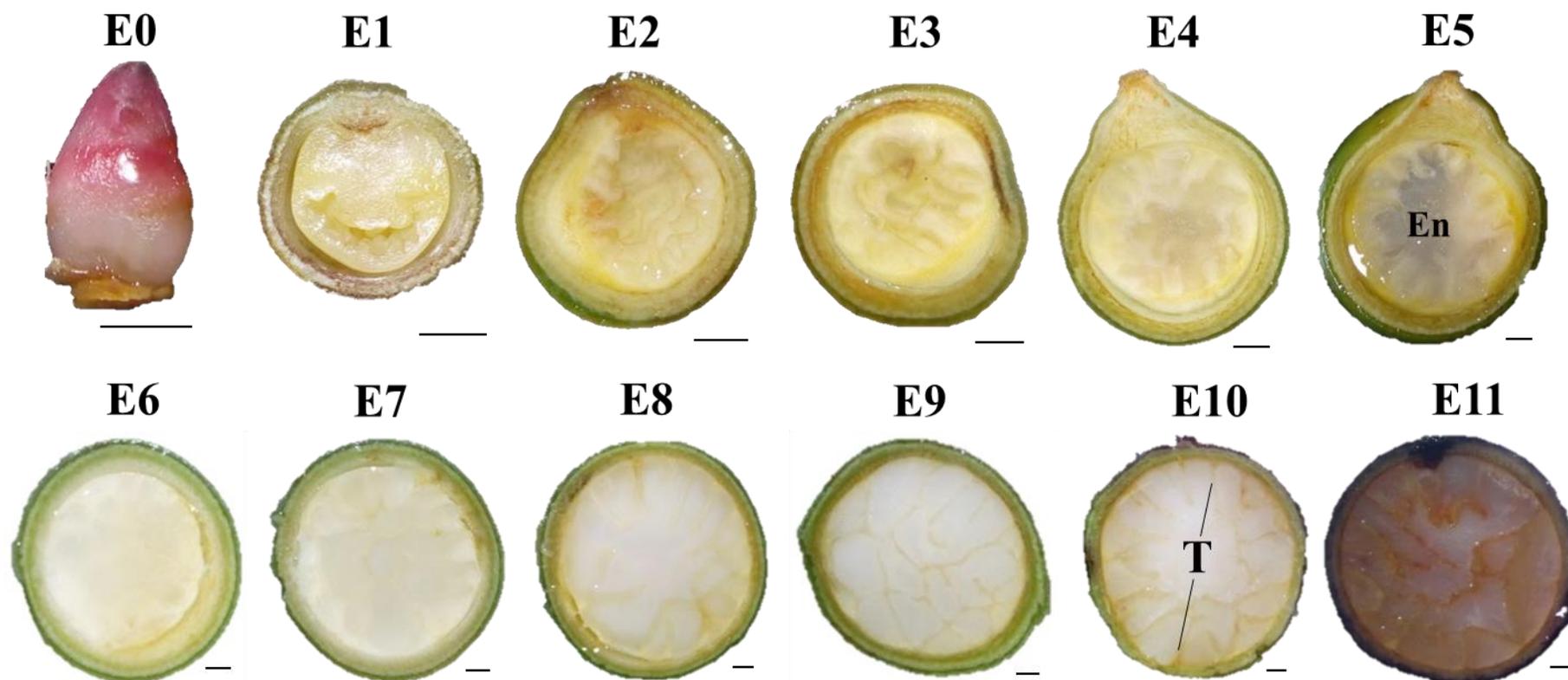
## 5.5 FORMAÇÃO DO REVESTIMENTO

A semente tem um desenvolvimento que promove o aumento do tamanho da semente, que vai de 2 mm no estágio inicial a 10 mm de diâmetro médio no final do desenvolvimento. É composta por um tegumento rígido e ruminado dentro do endosperma (Fig. 10).

As sementes nos estádios E1 ao E3 são compostas basicamente por tegumento (Fig. 10), o qual ocupa maior parte do diâmetro da mesma. O desenvolvimento de uma grande ruminação que ocupa quase toda cavidade central da semente, tendo origem na região do tecido onde apresenta-se uma cicatriz na semente (Fig. 11B e 11C).

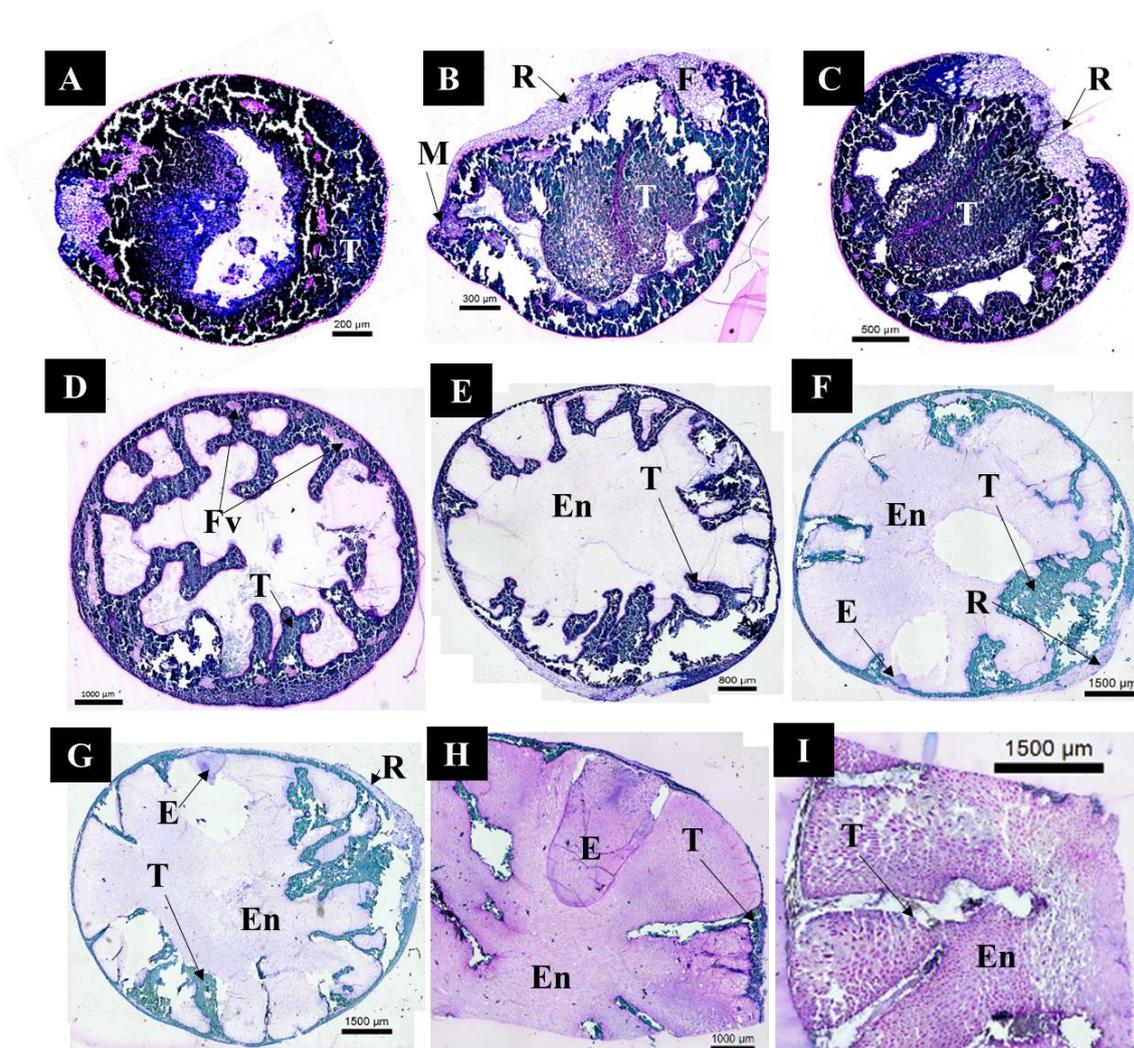
Entre os estádios E3 e E4 ocorre uma nítida diminuição no estrato celular do tegumento da semente entre as epidermes interna e externa. O número de camadas de células do tegumento nos estádios de desenvolvimento são de difícil quantificação por conta do acúmulo de compostos fenólicos neste tecido, o que promove uma falsa impressão referente a este critério de análise anatômica (Fig. 11C e 11D).

Do estágio E4 ao E11, o tegumento sofre divisões anticlinais, o que favorece o aumento do tamanho da semente e divisões periclinais as quais originam o tegumento ruminado, o qual é facilmente visto em qualquer parte da semente, que dará origem a câmaras de endosperma por toda semente (11D-I). No E11, o acúmulo de compostos fenólicos é mais evidente morfológicamente pela alteração da cor do tegumento (Fig. 10). Essas divisões celulares que promovem o aumento do tamanho da semente estão correlacionadas com as divisões celulares do endosperma, dando ao revestimento uma função de acomodação e proteção para o desenvolvimento do tecido filiais (Fig. 11I).



**Figura 10:** Desenvolvimento morfológico da semente de *Euterpe oleracea* Mart. En, Endosperma; T, Tegumento. barra: 1 mm.

Fonte: Elaborado pelo autor



**Figura 11:** Anatomia do desenvolvimento da semente de *Euterpe oleracea* Mart. **A.** Visão geral do E1. **B.** Visão geral do E2. **C.** Visão geral do E3. **D.** Visão geral do E4. **E.** Visão geral do E6. **F.** Visão geral do E8. **G.** Visão geral do E9. **H.** Visão geral do E10. **I.** Visão geral do E11. E, Embrião; En, Endosperma; F, Funículo; Fv, Feixe Vascular; M, Micropila; R, Rafe e T, Tegumento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

## **5.6 ANÁLISE HISTOQUÍMICA DO DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE**

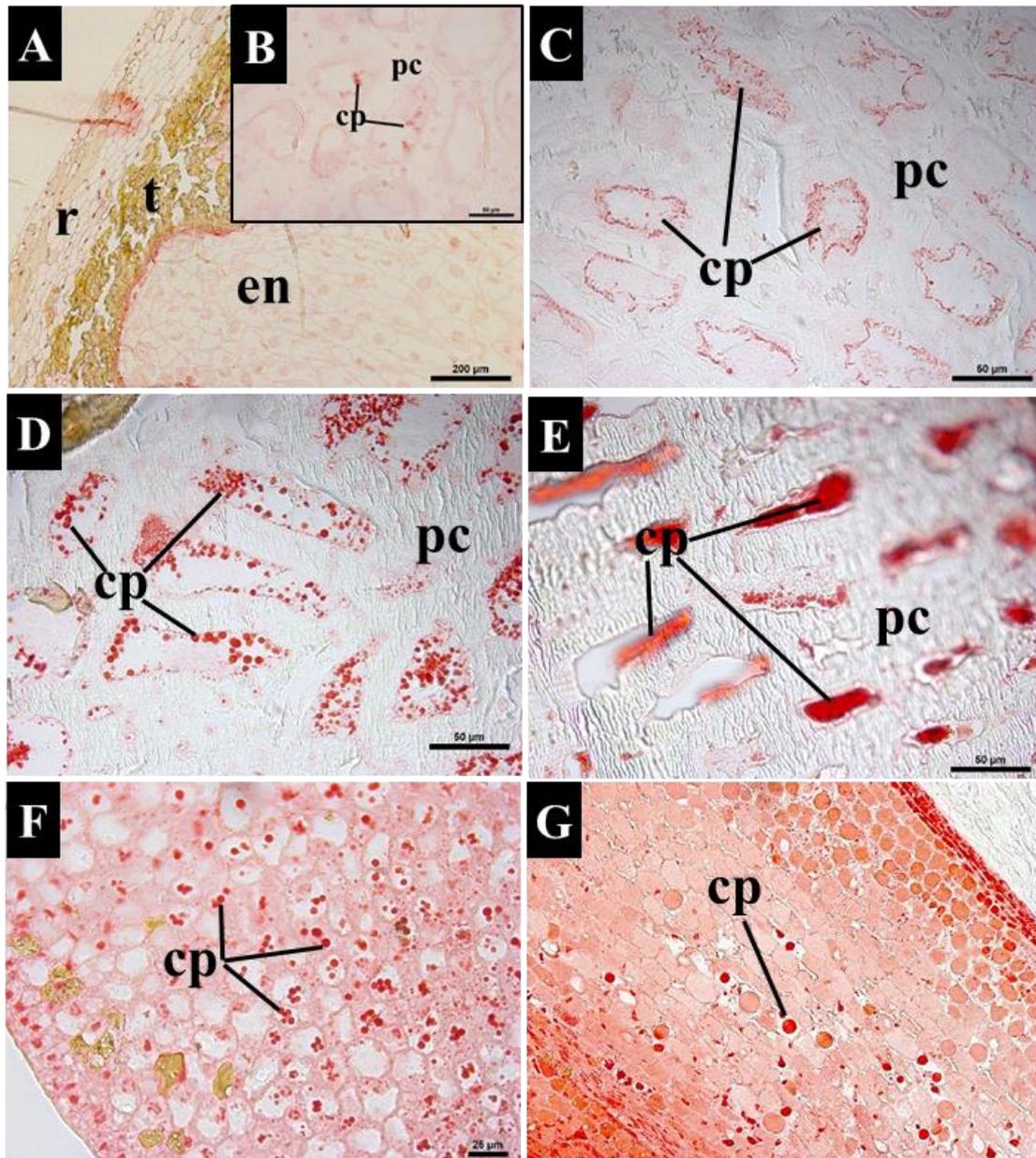
### **5.6.1 DETECÇÃO DE PROTEÍNAS**

O acúmulo de proteínas é detectado no estágio E6, porém apenas nas camadas centrais do endosperma da semente, nas células da extremidade adjacentes ao tegumento não é evidenciado a presença de proteínas (Fig. 12A e 12B). No estágio E7, ocorre uma intensificação do acúmulo dos corpos protéicos no citoplasma das células do endosperma em ambas as regiões do endosperma (Fig. 12C).

A intensificação do acúmulo é gradativa à medida que o endosperma se desenvolve, ou seja, nos estádios E9 e E11 (Fig. 12D e 12E). No estágio E11, ainda é possível evidenciar um acúmulo de proteínas com diferentes tamanho e granulação dos corpos protéicos. No embrião também é evidenciado a presença de corpos proteicos em ambas as regiões: proximal e distal (Fig. 12F e 12G).

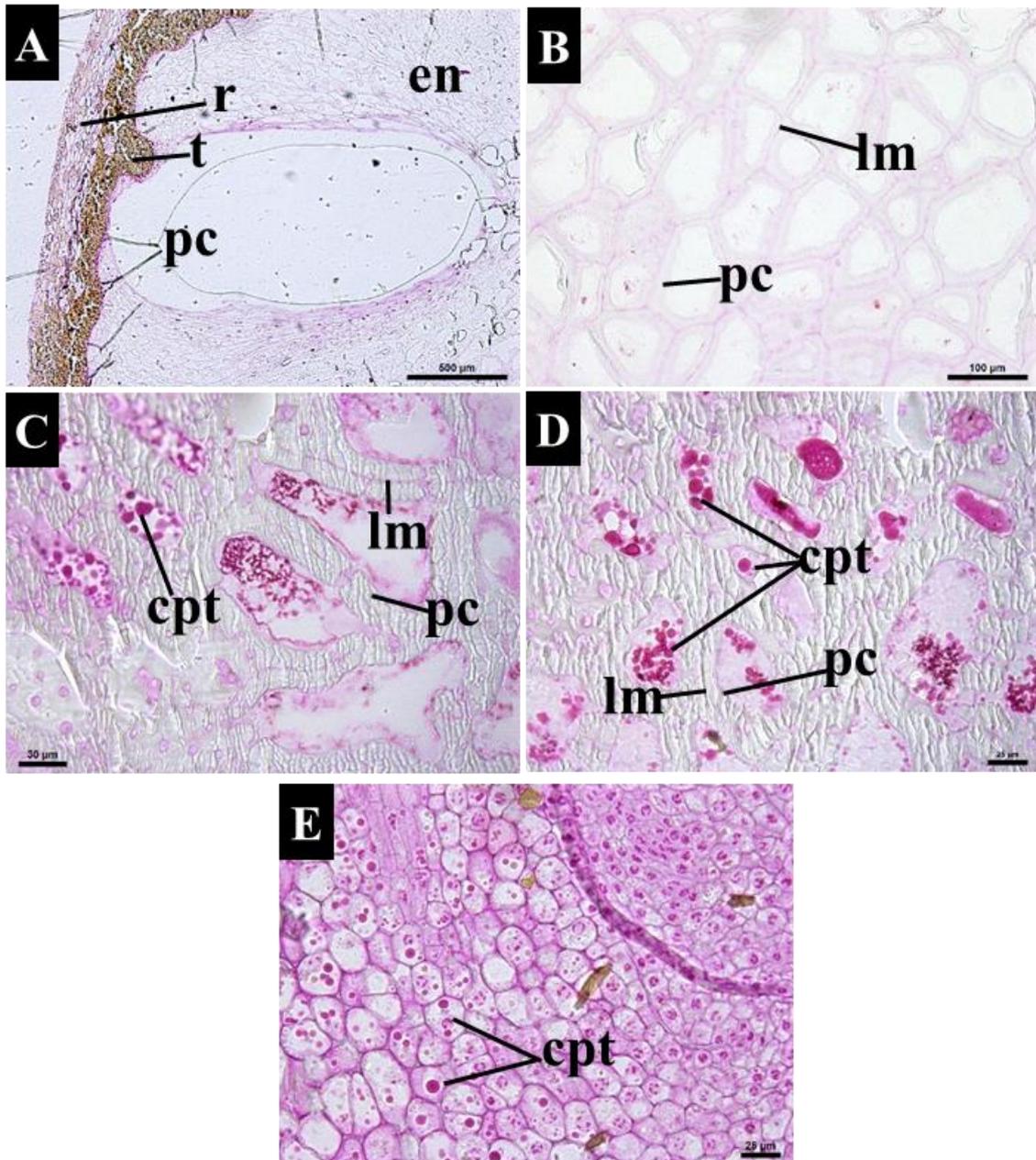
### **5.6.2 DETECÇÃO DE PECTINAS**

Foi evidenciando a presença de pectinas nos estádios iniciais (E6 e E7), apenas na região da lamela média (Fig. 13A e 13B). Nos estádios E9 e E11 verifica-se o acúmulo de pectinas no citoplasma do endosperma (Fig. 13C e 13D). Além disso, evidenciou-se que a composição da parede celular espessada não é de base química pectica, pois não ocorre reação na parede celular (Fig. 13C e 13D). Nos tecidos de composição do embrião maduro também é identificado a presença de pectinas no citoplasma das células (Fig. 13E).



**Figura 12:** Teste xilidine ponceau para detecção de proteínas no desenvolvimento do endosperma de *Euterpe oleracea* Mart. **A.** Estádio E6, região adjacente ao tegumento. **B.** Estádio E6, da região central da semente. **C.** Estádio E7. **D.** Estádio E9. **E.** Estádio E11. **F.** Região proximal do embrião maduro. **G.** Região distal do embrião maduro. cp, Corpos protéicos; en, Endosperma; pc, Parede Celular; r, Rafe e t, Tegumento.

Fonte: Elaborado pelo autor.



**Figura 13:** Teste vermelho de rutênio para detecção de pectinas no desenvolvimento do endosperma de *Euterpe oleracea* Mart. **A.** Estádio E6. **B.** Estádio E7. **C.** Estádio E9. **D.** Estádio E11. **E.** Região proximal do embrião maduro. cpt, Corpus pécticos; en, Endosperma; lm, Lamela média; pc, parede celular; r, Rafe e t, Tegumento.

Fonte: Elabora pelo autor.

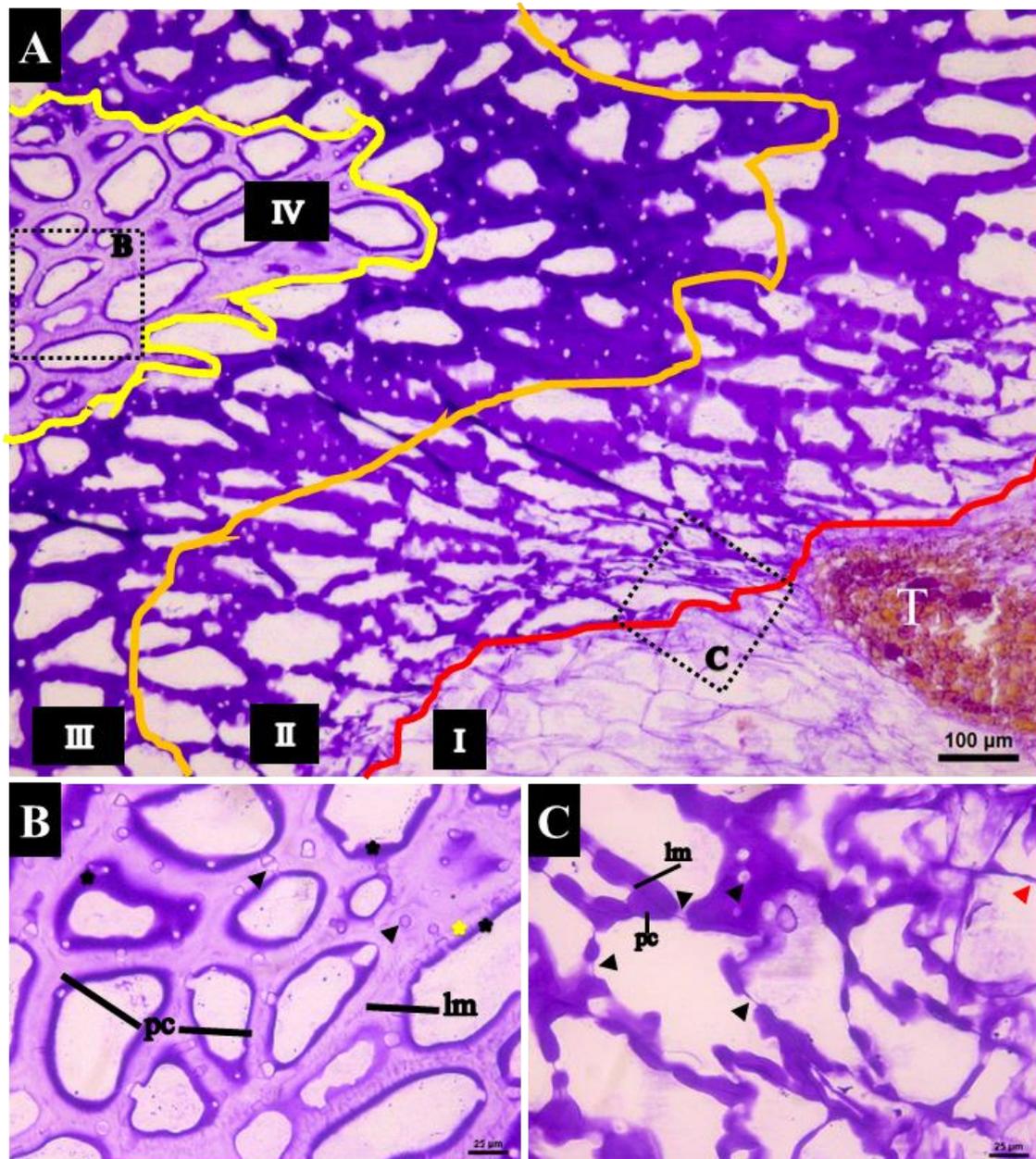
### 5.6.3 DETECÇÃO DE POLISSACARÍDEOS TOTAIS

No teste do Ácido Periodico/Schiff (PAS), foi identificado com reação positiva para o endosperma, que os polissacarídeos (açúcares) são substâncias de reserva para o endosperma do açaí, sendo acumulada na parede celular espessada.

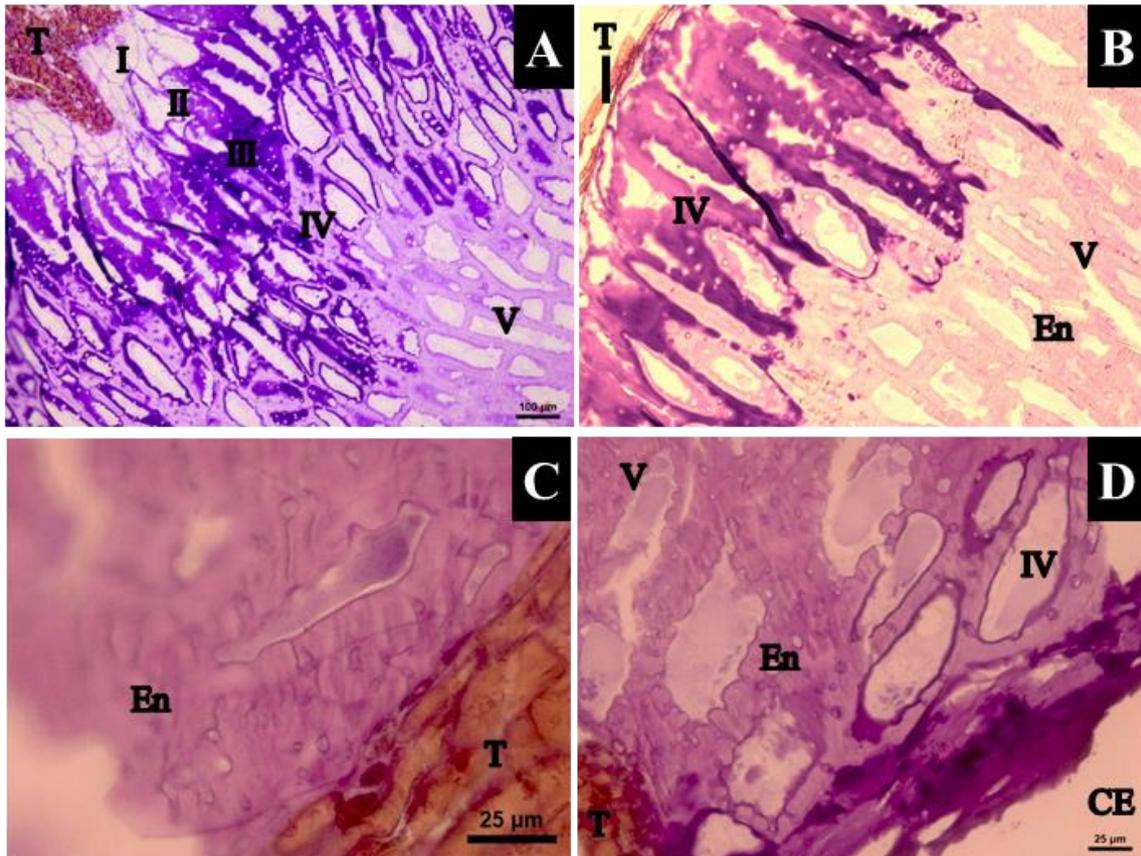
No estágio E6, a reação positiva proporciona um resultado que demonstra como ocorre o amadurecimento do endosperma em relação ao espessamento da parede celular, que é do tipo Centrifugo, ou seja, que ocorre inicialmente de dentro para fora. Neste estágio identificam-se quatro fases distintas (Fig. 14A): I - células próximas do tegumento com parede celular delgada; II - células com início do espessamento da parede celular; III - células com maior espessamento em relação a fase II (Fig. 14C); IV - células apresentando mudanças em relação a estabilidade química do espessamento da parede celular, o qual apresenta coloração diferente da encontrada na fase II e III (Fig. 15B).

No E7, o padrão de espessamento para parede celular é semelhante ao do E6, porém surgindo uma nova fase não identificada anteriormente (Fig. 15A). A fase V, que consiste na presença de células com a estabilidade do espessamento da parede semelhante em todas as partes da parede celular, sem mudança no gradiente de coloração para reação positiva do teste. No E9 ocorre uma diminuição nas fases encontradas, sendo vista apenas a fase IV próximo da região do tegumento em aproximadamente 2-3 estratos de células, a V presente em maior parte da semente (Fig. 15B).

No E11, o endosperma apresenta-se completamente na fase V, desde a região próxima do tegumento até o centro da semente (Fig. 15C). Porém células adjacentes as cavidades embrionárias se apresentam num estágio de transição da fase IV para III (zona de digestão), ocorrendo nessa região uma degradação do endosperma para fornecimento de energia para desenvolvimento do embrião (Fig. 15 D).



**Figura 14:** Teste Ácido Periodico/Schiff (PAS) para detecção de polissacarídeos neutros no estágio E6. **A.** Visão geral da reação, evidenciando as diferentes fases (I, II, III e IV) do espessamento da parede celular do endosperma. **B.** Visão da fase IV do espessamento da parede celular. **C.** Visão da região de transição entre a fase I e II. pc, Parede celular; lm, Lamela média; seta preta, campos de pontuações primárias; seta vermelha, Parede celular sem espessamento; (\*) preto, camada do espessamento da parede celular sem estabilidade química e (\*) amarelo, camada do espessamento da parede celular com estabilidade química. Fonte: Elaborado pelo autor.



**Figura 15:** Teste Ácido Periodico/Schiff (PAS) para detecção para polissacarídeos neutros nos estádios E7, E9 e E11. **A.** Estádio E7 evidenciando diferentes fases de amadurecimento e espessamento da parede celular do endosperma. **B.** Estádio E9 evidenciando duas fases de amadurecimento e espessamento da parede celular do endosperma. **C-D.** Estádio E11 evidenciando duas fases de amadurecimento e espessamento da parede celular do endosperma. CE, Cavidade embrionária; En, Endosperma; T, Tegumento e (I, II, III, IV e V), Fases de diferenciação do amadurecimento e espessamento da parede celular do endosperma.

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### **5.6.4 DETECÇÃO DE LIPÍDEOS TOTAIS**

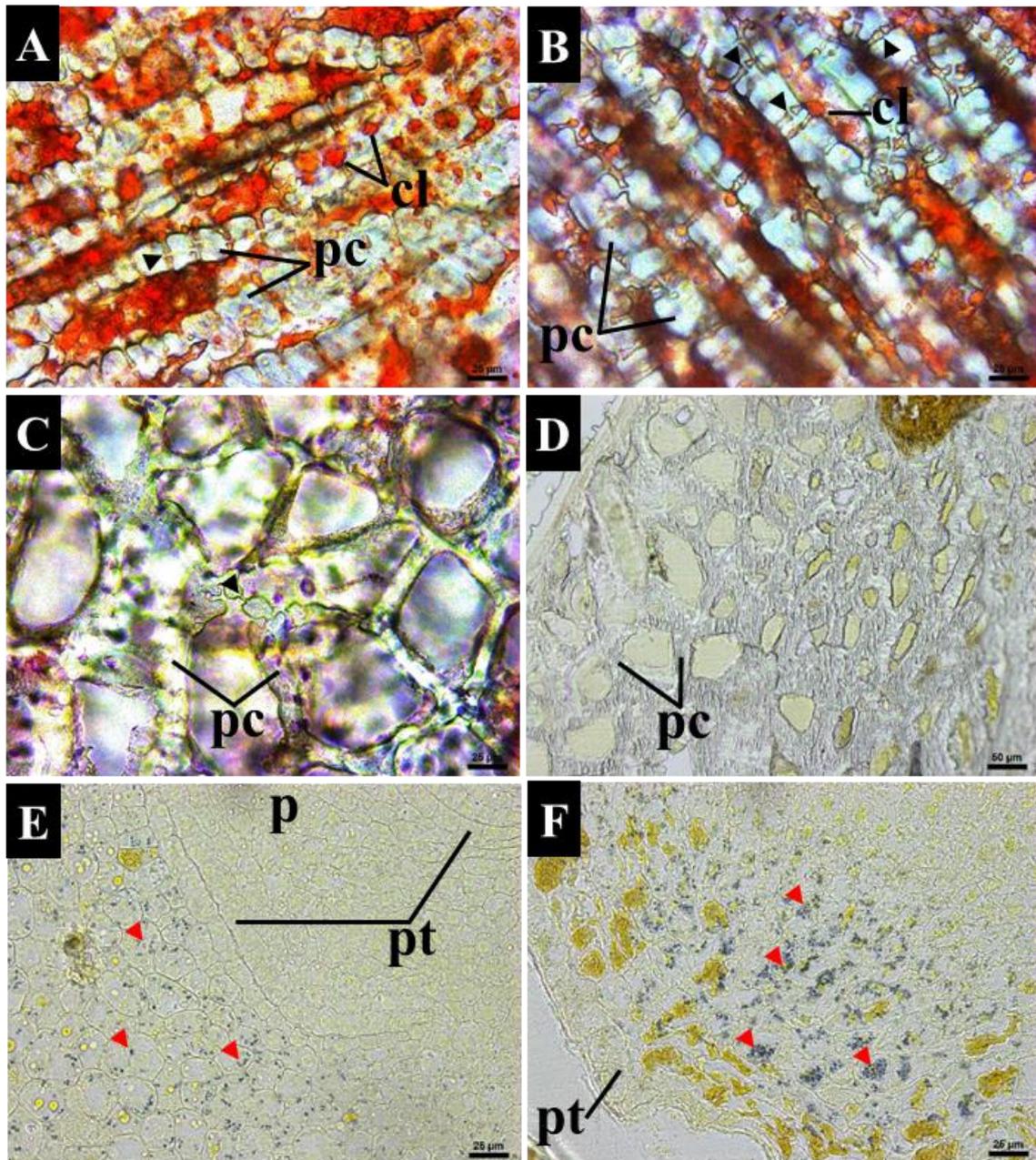
O teste histoquímico para lipídeos foi realizado apenas no E11, evidenciado o acúmulo de lipídeos dentro das células do endosperma da espécie (Fig. 16A e 16B) e evidenciado no teste controle para reação, células sem a presença de reação (Fig. 16C).

#### **5.6.5 DETECÇÃO DE AMIDO**

A presença de amido no desenvolvimento da semente e do endosperma de açaí não foi evidenciada nos estádios iniciais. Em nenhum dos estádios avaliados houve reação positiva nas células do endosperma (Fig. 16D), ocorrendo reação positiva apenas na região proximal do embrião do E11, próximo ao meristema apical (Fig. 16E) e radicular (Fig. 16F).

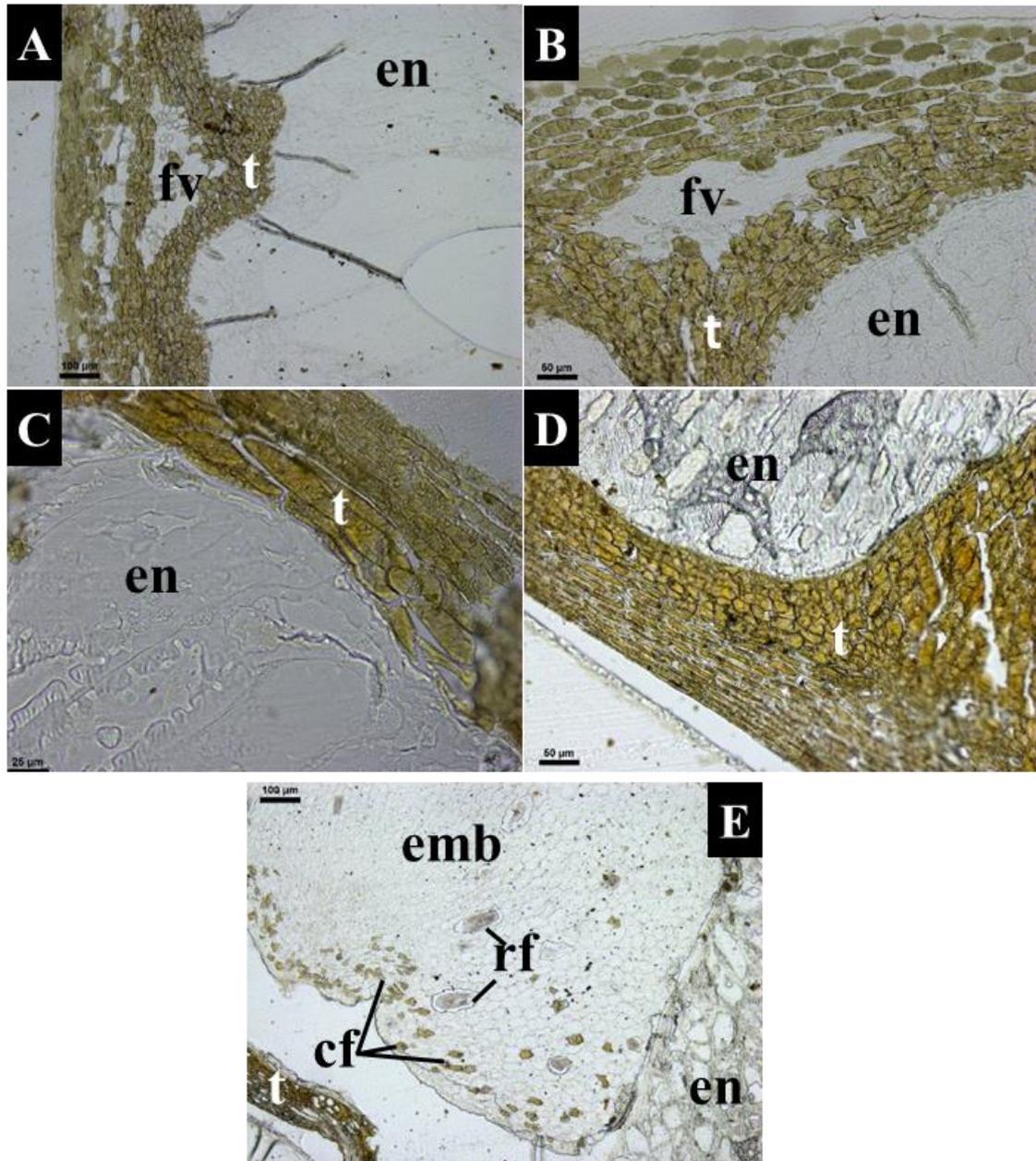
#### **5.6.6 DETECÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS**

A presença de compostos fenólicos é facilmente evidenciada desde o início da formação da semente na região do tegumento com base na coloração amarronzada que é apresentada na morfologia (Fig. 6). Nos estádios escolhidos para realização do teste histoquímico, foi possível comprovar que os compostos fenólicos são acumulados nos estratos celulares que compõem o tegumento da semente (revestimento), no endosperma não houve reação positiva (Fig. 18A-D). Porém no estágio E11 houve reação positiva para o teste na região proximal do embrião maduro, em células conhecidas como idioblastos, nas camadas mais próximas da protoderme circundando o meristema apical e o radicular (Fig. 18E).



**Figura 16:** Teste sudam III e lugol para detecção de lipídeos totais e amido. Lipídeos (A-C) e Amido (D-F) no desenvolvimento do endosperma de *Euterpe oleracea* Mart. **A-B.** Endosperma do estágio E11. **C.** Endosperma do estágio E11 com a reação controle para o teste do Sudam III. **D.** Endosperma do estágio E11, sem presença de amido. **E.** Estádio E11, na região proximal (Plúmula) do embrião maduro com presença de amido (seta preta). **F.** Estádio E11, na região proximal (Radícula não diferenciada) do embrião maduro com presença de amido (seta preta). cl, Corpos lipídicos; p, Plúmula; pc, Parede celular; pt, Protoderme.

Fonte: Elaborado pelo autor.



**Figura 17:** Teste cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos durante o desenvolvimento da semente de *Euterpe oleracea* Mart. cf, Idioblastos com compostos fenólicos; emb, Embrião; en, Endosperma; fv, Feixe vascular; rf, idioblastos com ráfides e t, Tegumento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 OVÁRIO

A espécie *E. oleracea* possui o ovário do tipo unicarpelar com apenas um lóculo, porém dentro da família Arecaceae é encontrado uma divergência em relação ao tipo de ovário, em algumas espécies eles são tricarpelar, possuindo na sua maioria três carpelos fundidos, com três lóculos e apenas um óvulo é fértil, ou seja, forma o embrião e o endosperma os outros são abortados durante o desenvolvimento (RODRIGUES; MENDONÇA e GENTIL, 2015; MAZZOTTINI-DOS-SANTOS et al., 2014; REIS et al., 2012; MAHABALÉ e BIRADAR, 1967; BIRADAR e MAHABALÉ, 1968).

A presença de idioblastos com ráfides e compostos fenólicos nas partes vegetativas e reprodutivas na espécie estudada foi evidenciada, o que é comum dentro de outros exemplares da família Arecaceae (HENDERSON e RODRIGUES, 1999; HENDERSON, 2006). Em coqueiro (*cocos nucifera* L.) trabalhos anteriores já relataram tais estruturas nas sépalas das flores femininas e masculinas (GUEVARA e JÁUREGUI, 2008) e na antera (HENDERSON e RODRIGUES, 1999). Já as ráfides são estruturas que podem ter implicações na proteção das plantas contra herbívora e contra o ataque de patógenos (FRANCESCHI e NAKATA, 2005).

O estudo ontogénico para compreensão da formação das sementes das palmeiras é fundamental, Rodrigues et al. (2015) relata que a semente de *B. maraja* é um pirênio, porém a autora não realizou estudos ontogénicos para se chegar à essa conclusão e ao mesmo tempo ela menciona que o uso de estudos ontogénicos eram necessários para se compreender a origem dos envoltórios da semente. Sendo este presente estudo o primeiro a descrever os tecidos que compõe a flor pistilada do *E. oleracea*, onde esses dados servirão de base para novos estudos aplicados com a espécie.

### 6.2 RUDIMENTO SEMINAL

*E. oleracea* possui óvulo do tipo hemianátropo, o qual vem sendo citado em estudos com as espécies de palmeiras, podendo se considerar que estas plantas se desenvolveram por um processo transição de grupos basais e os mais derivados, ao qual

possuem óvulos anátropos e ortótropo, respectivamente (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS et al., 2014; UHL; MORROW; MOORE JR., 1969).

A bitegumentação, como encontrado para a espécie estudada, é relatada em outras espécies de palmeiras, porém a bitegumentação é visualizada apenas na região micrópila, ao qual a epiderme interna e externa de cada tegumento é bem visualizada, tendo toda região acima da micrópila fundidos, tornando-se um único tecido (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS et al., 2014; GENOVESE-MARCOMINI et al., 2013).

O nucelo pode receber duas classificações, de acordo com a posição da diferenciação da célula mãe do megáspero que dará origem a formação do saco embrionário, sendo: Crassinucelado – quando o saco embrionário se posiciona várias camadas abaixo da epiderme nucelar; Tenuinucelado – quando o saco embrionário se posiciona a poucas camadas abaixo da epiderme nucelar. Sendo essa característica comum a família Arecacea como: *Acrocomia aculeata* (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, 2012), sendo assim os nossos resultados corroboram com os encontrados para outros representantes da família. Porém este tipo de nucelo é bastante evidenciado distintas famílias de monocotiledôneas, a exemplo temos: Poaceae (NAKAMURA et al., 2009); Ecdiocolaceae (RUDALL et al., 2005); Eriocaulaceae (SCATENA e BOUMAN, 2001); Xyridaceae (RUDALL e SAJO, 1999); Orchidaceae (KAPIL e BHATNAGAR 1991) e Mayacaceae (VENTURELLI e BOUMAN, 1986).

A hipóstase é definida como uma região do óvulo com acúmulo de compostos fenólicos nas células que pode ser encontrada entre a região da calaza e o saco embrionário, onde já foi relatado algumas funções para esta estrutura, como: Proteção da semente; Estabilização do balanço hídrico em sementes dormentes; Regulação do crescimento do saco embrionário, Facilitadora do transporte de nutrientes, enzimas e reguladores; Atua como tecido de reserva (BHATNAGAR; BHOJWANI, 2008). Nas palmeiras está estrutura sendo citada, a qual se distribui por toda extensão do tegumento interno menos na região de diferenciação dos tegumentos, como encontrado nos nossos dados. Após a fecundação a distribuição dos compostos fenólicos por toda a região do tegumento se inicia a partir da hipóstase e serve como região de proteção ao saco embrionário durante o seu desenvolvimento (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS et al, 2014).

### 6.3 EMBRIOGÊNESE

Johansen (1950) estudando a embriologia de espermatófitas, definiu seis tipos de desenvolvimento embrionário, baseado nas divisões ocorridas depois do estabelecimento das células basal e apical. Os tipos de desenvolvimento embrionário são: onagráceo ou crucífero, asteráceo, chenopodiáceo, solanáceo, cariofiláceo e piperáceo.

Como base na descrição feita por Johansen (1950), pode-se afirmar que o desenvolvimento embrionário do *E. oleracea* é do tipo onagráceo ou crucífero, de onde o embrião é formado a partir de divisões celulares a partir da célula apical. Dados semelhantes a este foram encontrados para outras espécies de palmeiras: *Sabaleae*; *A. catechu*; *C. nucifera* e *S. inajai* (RAO, 1955; HACCIUS e PHILIP, 1979 e GENOVESE-MARCOMINI et al. 2013). Porém, o tipo asteráceo, que consistem em embriões derivados das divisões celulares da célula basal, já foi mencionado para duas espécies de palmeiras: *Phoenix* e *L. chinensis* (MAHABALE e BIRADAR 1967, BIRADAR 1968, BIRADAR e MAHABALE 1968, KULKARNI e MAHABALÉ, 1974).

Aguiar e Mendonça, 2002, 2003; Panza et al. 2004; Araújo, 2005; Gonçalves et al. 2010 demonstram a estrutura morfoanatômica do embrião maduro de *E. oleracea* e dos outros exemplares do gênero, relatando que o embrião é cônico; diminuto com meristema do tipo oblíquo, por apresentar uma curvatura de 90° do meristema apical em relação ao radicular; que ocupa toda cavidade embrionária quando maduro, que possuem duas regiões distintas: proximal (pecíolo cotiledonar) e distal (haustório); o meristema radicular ainda não está diferenciando, sendo possível encontrar o primórdio da radícula; o meristema apical, encontra-se dentro de uma cavidade, formada a partir do desenvolvimento do bico cotiledonar e o cotilédone superior, para acomodação e proteção do meristema, o qual apresenta três primórdios foliares.

### 6.4 FORMAÇÃO DO ENDOSPERMA

O endosperma para as monocotiledôneas tem um papel fundamental para a formação de embriões, para o processo germinativo e estabelecimento das mudas, sendo

considerado o principal tecido de reserva nas sementes de plantas (DAVIDE e SILVA, 2008).

Maheshwari, (1950) definiu três tipos de formação do endosperma em plantas, sendo eles os seguintes: nuclear (núcleos dispersos dentro do citoplasma da célula central, formando o cenócito), celular (células apresentando parede celular delgada, distribuídas dentro da célula central) e helobial (uma forma intermediária entre os dois tipos anteriores).

Estudos relacionados com a formação do endosperma do açaí (*E. oleracea*) são ausentes, sendo este o primeiro trabalho a evidenciar o início da formação e desenvolvimento deste tecido. Evidenciando que o mesmo é nuclear, onde ocorrem diversas divisões celulares nos estádios iniciais de desenvolvimento da semente, sem que proceda a deposição de parede celular seguida após a divisão, para formação de uma estrutura multinucleada conhecida como cenócito (COSTA; ZIMMER e VILLELA, 2011). E nos estádios posteriores ocorre a formação de parede celular em conjunto com sucessivas divisões.

Nas sementes das palmeiras, *Euterpe edulis* (BELIN-DEPOUX e QUEIROZ, 1971) *Euterpe precatória* (HENDERSON et al., 1995; AGUIAR e MENDONÇA, 2003) e *Oenocarpus minor* (MENDONÇA et al., 2008), *Bactris gasipaes* (NAZÁRIO et al., 2013) e *Acrocomia aculeata* (MOURA et al., 2010; MAZZOTTINI-DOS-SANTOS; RIBEIRO e OLIVEIRA, 2016), também foi observado um endosperma homogêneo, com paredes espessadas e que ocupa todo o espaço da semente quando maduros.

Paula (1975) foi o primeiro autor a mencionar a presença de endosperma ruminado para o gênero *Euterpe*, o qual os dados obtidos contribuem para afirmação deste processo, porém Tomlinson (1990), afirmou que por existir uma variação dentro do gênero, a presença de endosperma ruminado na *E. oleracea* não configura um grupo superior e que pode estar relacionado com a presença de células meristemáticas no tegumento interno que promovam está ruminado.

## **6.5 FORMAÇÃO DO REVESTIMENTO**

O revestimento das sementes é originado a partir de modificações morfológicas e bioquímicas nos tegumentos interno e externo, após a fecundação do saco

embrionário, onde o tegumento interno origina o tegma e o tegumento externo a testa das sementes. Nas observações anatômicas realizadas, foi possível identificar que ocorre uma redução no número de camadas do tegumento e conseqüentemente do revestimento da semente. E o mesmo só apresenta alteração quanto ao tecido de revestimento na região da cicatrização da semente (rafe).

A rafe é definida como uma região de cicatrização oriunda da curvatura do funículo de óvulos anátropos. Aguiar e Mendonça (2003) ao estudarem a anatomia da semente madura de *E. precatoria*, denominaram uma região de cicatrização encontrada na semente da espécie como rafe, cicatriz esta que também é semelhante a encontrada no *E. oleracea*, porém Aguiar e Mendonça (2003), não realizaram nenhum tipo de estudo ontogênico afim de elucidar a origem dos tecidos que compõem a semente do *E. precatoria*, diferente do que foi realizado nestes estudos.

Sendo assim, podemos compreender que com base na definição botânica para a estrutura da rafe, não é evidenciado a presença de rafe em *E. oleracea*, pois suas sementes são oriundas de um óvulo hemianátropo, que não favorece a formação de rafe por não possuírem região de curvatura do funículo. Tendo esta cicatrização oriunda de uma curvatura existente nos óvulos da espécie. Podendo levar uma nova definição para essa estrutura.

Desta maneira, os estudos prévios e ontogênica afim de elucidar a origem e formação dos tecidos que compõe as estruturas reprodutivas das espécies são de fundamental importância (GENOVESE-MARCOMINI et al., 2013). Silva et al. (2014), evidenciaram a presença de duas regiões distintas na formação do revestimento da semente de *Mauritia flexuosa*.

## **6.6 ANÁLISES HISTOQUÍMICAS DO DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE**

Nas plantas, todas as suas partes morfológicas inclusive as sementes, apresentam composição orgânica, estes compostos podem ser estruturais, de reserva ou metabólicos secundários. Os compostos orgânicos podem ser encontrados em diversas formas de macromoléculas nos cotilédones e no endosperma; os principais tecidos de reserva nas sementes das plantas para favorecer o desenvolvimento das plântulas.

Esses compostos são encontrados nas palmeiras na forma de reserva no endosperma, proteínas e lipídios são encontrados em *Euterpe edulis* Mart. (PANZA et al. 2004), *Euterpe oleraceae* Mart. (GONÇALVES et al., 2010), *Acrocomia aculeata* (MOURA et al., 2010) e *Bactris gasipaes* (NAZÁRIO et al., 2013). As proteínas nessas espécies vêm sendo relacionadas com a primeira fonte de reserva consumida durante os estágios de embebição e germinação do embrião, fornecendo corpos de carbonos e nitrogênio para as plântulas nos primeiros estádios do desenvolvimento (GONÇALVES et al., 2010; BEWLEY et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; BICALHO et al., 2016).

Sekhar e DeMason, (1988); Bewley et al. (2013), levantaram uma hipótese de que os corpos proteicos encontrados acumulados nas células endospermatas das palmeiras, podem está relacionadas com acúmulo de proteínas hidrolíticas inativas, que tem ligação direta com o processo de mobilização das reservas do endosperma. A atividade de enzimas hidrolíticas: endo- $\beta$ -mananase (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS; RIBEIRO E OLIVEIRA, 2016) e  $\alpha$ -galactosidase (BICALHO et al., 2016) e lipases presentes no endosperma foram detectadas em sementes secas, o que levou aos autores a afirmarem que essas enzimas estão presentes no endosperma na forma dos corpos proteicos acumulados no interior das células.

Por serem a maioria das palmeiras de regiões que desfavorecem o seu desenvolvimento durante a germinação, levando essas espécies a investirem um alto custo energético para produção de corpos proteicos para o fornecimento inicial de corpos de carbono e nitrogênio para desenvolvimento da plântula (BUCKERIDGE et al., 2000).

Nas palmeiras *Bactris gasipaes* (NAZÁRIO et al., 2013); *Bactris maraja* (RODRIGUES, MENDONÇA e GENTIL, 2015) e *Acrocomia aculeata* (MOURA et al., 2010; MAZZOTTINI-DOS-SANTOS; RIBEIRO e OLIVEIRA, 2016), são relatados o acúmulo de pectinas dentro do conteúdo celular como fonte de reserva, assim como observado nos resultados encontrados. As pectinas são polissacarídeos componentes da parede celular, quando encontradas no conteúdo celular, pode ser resultado de alterações de sua estrutura, para ocorrência de translocação da mesma a partir da parede celular, constituindo uma mucilagem (TAIZ; ZEIGER, 2013; RODRIGUES, MENDONÇA e GENTIL, 2015). A presença e o acúmulo de pectinas

no embrião do *E. oleracea*, pode estar relacionado com a possivelmente metabolização desse polissacarídeo durante a germinação do embrião (BUCKERIDGE et al., 2000).

O amido é um polissacarídeo obtido através das ligações glicosídicas entre as moléculas de glicose, que particularmente é bem adaptado à função de reserva, sendo mobilizado por hidrólise ou por mecanismos que envolvem a fosforilação direta de resíduos de glicose terminais (BEWLEY E BLACK, 1994). Nas palmeiras este carboidrato não é observado como fonte de reserva nos tecidos do endosperma (PANZA et al., 2004; GONÇALVES et al., 2010; MOURA et al., 2010; NAZÁRIO et al., 2013). Porém relatado no eixo embrionário de *Elaeis guineensis* Jacq. (DE MASON, 1988; RODRIGUES; MENDONÇA e GENTIL, 2015) e *Bactris gasipaes* (NAZÁRIO et al., 2013).

Dados estes que se assemelham aos encontrados, onde foi identificado a presença de amido próximo aos eixos embrionários, na radícula não diferenciada e nos primórdios foliares. Sendo o amido, polímero de glicose, a mesma é uma das primeiras moléculas a serem catabolizadas para fornecimento de energia para as reações anabólicas fundamentais (NELSON e COX, 2014), para o desenvolvimento da espécie, durante a germinação do embrião e possivelmente tendo uma orientação do geotropismo positivos nas células do coifa (TAIZ, 2012). Desta forma, pode-se afirmar que estas moléculas são as pioneiras na produção de energia para desenvolvimento do botão germinativo emitido pelas palmeiras durante sua germinação para exposição dos seus meristemas (PANZA et al., 2004; AGUIAR e MENDONÇA, 2012; NAZÁRIO et al., 2013).

Outros carboidratos podem estar armazenados nas paredes espessadas das células endospermáticas das palmeiras (PANZA et al., 2004; MOURA et al., 2010; NAZÁRIO et al., 2013), como fonte de reserva, conhecidos como polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC).

Nas Arecaceae os mananos foram relatados no endosperma espessado de *Phoenix dactylifera* (SACHS, 1862); *Phytelephas macrocarpa* (KEUSCH, 1968); *Butia capitata* (OLIVEIRA et al. 2013; PINHO et al., 2014) e *Acrocomia aculeata* (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS; RIBEIRO e OLIVEIRA, 2016). Onde Keusch (1968); Pinho et al. (2014) e Mazzottini-dos-Santos; Ribeiro e Oliveira (2016), identificaram a presença e atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase próxima a de digestão do endosperma

(região adjacente ao embrião/haustório), enzima que está relacionada com a degradação de mananos.

Os mananos, apresentam outras funções além da função como componente de reserva, podendo oferecer uma rigidez nas sementes que possuem eles em sua composição química (BUCKERIDGE et al., 2000). Este fato pode ter uma relevância em relação aos dados encontrados para a espécie do açáí, pois foi verificado que a partir do estágio E9 as sementes apresentam uma certa resistência ao corte realizado com auxílio de estilete, quando comparado com os estádios anteriores (Tabela 1). Anatomicamente no E9 a partir do teste do Ácido Periódico/Schiff (PAS), que as células do endosperma analisadas começam a apresentar a maior parte das células com presença da estabilidade química desses polissacarídeos, fornecendo assim a semente uma certa dureza e prevenindo danos mecânicos ao embrião minúsculos.

A presença de compostos fenólicos impregnados no revestimento é evidenciada desde o ovulo e posterior a sua fecundação, os compostos fenólicos encontrados na região da hipóstase, se expande ocupando todo o tegumento interno e o externo. Conseqüentemente com o avançar do desenvolvimento da semente os compostos ficam restritos a camadas de células do revestimento da semente. Compostos estes que apresentam função de proteção da semente contra a herbívora e ataque de patógenos, pois nas palmeiras a presença de taninos na composição do tegumento de suas sementes é comum, não diferindo dos dados obtidos (MOURA et al., 2010; NAZÁRIO et al., 2013).

Em conjunto a essa informação, no açáí ocorre a presença de idioblastos contendo compostos fenólicos próximo a região distal, na extremidade da região de protrusão, onde esses compostos tem as mesmas funções de proteção do embrião contra ataques de fungos e patógenos (FRANCESCHI e NAKATA, 2005; HENDERSON, 2006).

## 8 CONCLUSÕES

- Este é o primeiro estudo a descrever detalhadamente as estruturas do óvulo, do embrião zigótico, assim como a formação e desenvolvimento do endosperma do *Euterpe oleracea* Mart.
- Desta forma fornecerá subsídios de base para futuros estudos na área da biologia reprodutiva, taxonomia vegetal, anatomia e morfologia vegetal, bioquímica e diversas áreas da agronomia como tecnologia de sementes.
- Esses resultados serão relevantes para os estudos com a espécie, dentro do gênero e principalmente para a família Arecaceae, a qual tem uma relevância dentro das angiospermas com exemplares que vem ganhando mas o mercado consumidor pela alta versatilidade, existente dentro os tantos produtos e subprodutos obtidos como matéria prima.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, M. O. A.; MENDONÇA, M. S. Aspectos morfo-anatômicos do embrião de *Euterpe precatoria* Mart. Durante o processo de germinação. **Acta Botânica Brasilica**, v. 16, n. 3, p. 241-249, 2002.

AGUIAR, M.O.; MENDONÇA, M.S. Morfo-anatomia da semente de *Euterpe precatoria* Mart. (Palmae). **Rev Bras de Sem** 25:37–42, 2003.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. 3. ed. rev. atu. Viçosa: UFV, 2012, 438p.

SOUZA, L. A. **Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação**, 1ª Edição, Editora Toda Palavra, 2009, 280p.

ARAÚJO, Maria Gracimar Pacheco de. Morfo-anatomia e desenvolvimento dos frutos e sementes de três espécies da subfamília Arecoideae (Arecaceae). 2005. 204f. **Tese em Ciências Biológicas (Botânica)** - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2005.

ASKGAARD, A. Floral structure in the neotropical palm genus *Chamaedorea* (Arecoideae, Arecaceae). **Anales del Jardín Botánico de Madrid** 65: 197-210, 2008.

BELIN-DEPOUX, M.; QUEIROZ, M.H. Contribution à l'étude ontogénique des palmiers. Quelques aspects de la germination de *Euterpe edulis* Mart. **Revue Générale de Botanique**, v.8, p.339-371, 1971.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed. New York, Plenum Press, p. 445, 1994.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Springer, New York, USA, 2013.

BHATNAGAR, S. P.; BHOJWANI, S.S. **The embriology of Angiosperms**. 2008.

BIRADAR, N. V. **Studies on palms: embryology of *Phoenix pussila* Gaertn., *P. acaulis* and *P. Reclinata* JACQ.** Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section B 67, 165–173, 1968.

BIRADAR, N.V., MAHABALÉ, T. S. Studies on palms: Embryology of *Phoenix robusta* Hook. **P Indian AS Plant Sc** 68:1–9, 1968.

BIRADAR, N.V.; MAHABALE, T.S. **Studies on palms: fruits, seeds and seed germination in the genus *Phoenix* L.** Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section B 70, 55–65, 1968.

BONDARENKO, P. V.; D. CHELIUS. "Identification and relative quantitation of protein mixtures by enzymatic digestion followed by capillary reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry." **Analytical chemistry**, v. 74, n. 18, p. 4741-4749, 2002.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, 72, 248-254, 1976.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Amazônia Oriental. **Sistema de Produção do Açaí**. Vol. 4 - 2ª Edição Dez./2006.

BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M.A.S.; SANTOS, H.P.; LIMA, D.U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes, estrutura, metabolismo, função e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.137-162, 2000.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Açaí, Conjuntura semestral**, setembro de 2016. Disponível em: <  
[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_10\\_24\\_14\\_12\\_45\\_conj\\_acai\\_setembro\\_-2016\\_-reconf.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_10_24_14_12_45_conj_acai_setembro_-2016_-reconf.pdf)> Acesso em: 06 de junho de 2017.

D'AMATO, A.; FASOLI, E.; RIGHETTI, P.G. Harry Belafonte and the secret proteome of coconut milk. **J Prot** 75(3):914–920, 2012.

DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: UFLA, 175p., 2008.

DRANSFIELD, J.N.W. et al. *Genera Palmarum: The evolution and classification of palms*. **Royal Botanic Gardens**, Kew. 732p, 2008.

FRANCESCHI, V.R.; NAKATA, P. Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Ann. Rev. Plant. Biol.*, 56:41-71, 2005.

GENOVESE-MARCOMINI, et al. Embryonic development of *Syagrus inajai* (Spruce) Becc. (Arecaceae, Arecoideae), an Amazonian palm, **Australian Journal of Botany**, 61, 611-621, 2013.

GONÇALVES, J. F. C. et al. Physiological and biochemical characterization of the palm (*Euterpe oleracea* Mart.) during seed germination and seedling growth under aerobic and anaerobic conditions. **Revista Árvore** 34: 1045-1053, 2010.

HACCIUS, B. M.; PHILIP, V. J. K. Embryo development in *Cocos nucifera* L.: a critical contribution to a general understanding of palm embryogenesis. **Plant Systematics and Evolution** 132, 91–106, 1979.

HENDERSON, A. et al. *Field guide to the palms of the Americas*. **Princeton**: Princeton University Press, 1995.

HENDERSON, A.; GALEANO, G. *Euterpe, Prestoea, and Neonicholsonia* (Palmae: Euterpeinae). New York: New York Botanical Garden, 1996. 90p. (Flora Neotropica, 72).

IRAR, S. et al. Proteomic analysis of wheat embryos with 2-DE and liquid-phase chromatography (ProteomeLab PF-2D) — A wider perspective of the proteome. **Journal of proteomics**, 73, 1707-1721, 2010.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. Nova york, McGraw-Hill Book Co. Inc, 532 p., 1940.

JOHANSEN, D.A. **Plant embryology: embryogeny of the Spermatophyta**, Chronica Botanica: Waltham, MA, 1950.

JOLY, A. B. **Introdução á taxonomia vegetal**. São Paulo, 2002.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12ª ed. São Paulo: Nacional, 1998.

JUNQUEIRA, C. U. O. O uso de cortes finos de tecidos na Medicina e Biologia. **Meios e Métodos**, 66, 167-171, 1990.

KAHN, F.; DE GRANVILLE, J. Palms in forest ecosystems of Amazonia: Ecological Studies, 95. **Springer Verlag**, New York. 226p, 1997.

KAPIL, R.N.; BHATNAGAR, A.K. Embryological evidence in angiosperm classification and phylogeny. **Botanische Jahrbucher fur Systematik** 113:309-338, 1991.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology**, 27: 137-138, 1965.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**, seropédica, Rio de Janeiro, 200 p., 1997.

KULKARNI, K. M.; MAHABALÉ, T. S. **Studies on palms: embryology of Livistona chinensis R. Br.** Proceedings of the Indian Academy of Science 68B, 1-17, 1974.

LAEMMLI, U. K. "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4." **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.

LOPES, A. V. F. et al. **Aspectos econômicos do acaizeiro**, Belém, 55p, 1982.

LORENZI, H. **Palmeira brasileiras e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP. 704 p., 2004.

MAHABALÉ, T.S., BIRADAR, N.V. Studies on palms: embryology of *Phoenix sylvestris* Roxb. **P Indian AS Plant Sc** 67:77–96, 1967.

MAHABALÉ, T.S., BIRADAR, N.V. Studies on palms: embryology of *Phoenix sylvestris* Roxb. **P Indian AS Plant Sc** 67:77–96, 1967.

MAHABALE, T.S.; BIRADAR, N. V. **Studies on palms: embryology of *Phoenix sylvestris* Roxb.** Proceedings of the Indian Academy of Science 67B, 77–96, 1967.

MARTIUS, C. Historia Naturalis Palmarnm. **T. O. Weigel**, Leipzig, 1823-1850.

MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, H. C. et al. Ontogenesis of the pseudomonomerous fruits of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae): a new approach to the development of pyrenarium fruits, **Trees**, Volume 29, Issue 1, pp 199–214, 2014.

MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, H. C.; RIBEIRO, L. M.; OLIVEIRA, D. M. Roles of the haustorium and endosperm during the development of seedlings of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae): dynamics of reserve mobilization and accumulation, **Protoplasma**, P. 1-16, Nov 24, 2016.

MAZZOTTINI-SANTOS, H. C. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (ARECACEAE) no norte de minas gerais: morfoanatomia de flores e frutos e aspectos da biologia reprodutiva, Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

MELHORANÇA FILHO, A. L.; PEREIRA, M. R. R. Atividade antimicrobiana de óleos extraídos de açaí e de pupunha sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 4, p. 598-603, July/Aug. 2012.

MOURA, E. F. et al. Anatomy, histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Scientia Agricola** 67: 399-407, 2010.

MOURA, R. C. et al. Biometria de frutos e sementes de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no Norte de Minas Gerais, Brasil. **Biota Neotropica** 10: 414-419, 2010.

NAKAMURA, A. T.; LONGHI-WAGNER, H. M.; SCATENA, V. L. Desenvolvimento de óvulo, fruto e semente de espécies de Poaceae (Poales), **Revista Brasil. de Bot.**, v. 32, n. 1, p. 165-176, jan-mar, 2009.

NAZÁRIO, P. et al. Anatomical and histochemical aspects of the peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) seed. **Journal of Seed Science** 35: 171-178, 2013.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 1328 p., 2014.

NOGUEIRA, O. L.; HOMMA, A.K.O., Análise econômica de sistema de manejos de açaiçais nativos no estuário amazônico, **EMBRAPA**, 38p., 1998.

OLIVEIRA, A.B. et al. Aspectos anatômicos do embrião e desenvolvimento inicial de *Oenocarpus minor* Mart: uma palmeira da Amazônia. **Acta bot bras** 24:20–24, 2010.

OLIVEIRA, M. do S. P. et al. Variação fenotípica em acessos de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) para caracteres relacionados à produção dos frutos. Belém: Embrapa-CPATU, 23p. (**EmbrapaCPATU. Boletim de Pesquisa, 209**), 1998.

PANZA, V. et al. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. **Bot J Linn Soc** 145:445–453, 2004.

RAO, C. V. **Contributions to the embryology of Palmae I. SABALEAE**. Proceedings of the National Institute of Sciences of India 25 B, 143–169, 1958.

RASOOL, K. G. et al. Optimization of protein isolation from date palm plants and its utilization in differential proteomics associated with red palm weevil infestation. **Pak. J. Agri. Sci.**, Vol. 51(4), 907-917; 2014

REIS, S.B., MERCADANTE-SIMÕES, M.O., RIBEIRO, L.M. (2012) Pericarp development in the macaw palm *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Rodriguésia** 63:541–549, 2012.

RODRIGUES, J. K.; MENDONÇA, M. S.; GENTIL, D. F. O. Aspectos biométricos, morfoanatômicos e histoquímicos do pirênio de *Bactris maraja* (Arecaceae), **Rodriguésia** vol.66 no.1 Rio de Janeiro Jan./Mar. 2015.

RODRIGUES, R.B. et al.. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) seeds and identification of their polyphenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.54, n.12, p.4162-4167, 2006.

RUDALL, P.J., STUPPY, W., CUNNIFF, J., KELLOGG, E.A. & BRIGGS, B.G. Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sistergroup comparison with their putative closest living relatives, Ectocostaceae. **American Journal of Botany** 92:1432-1443, 2005.

RUDALL, P.J.; SAJO, M.G. 1999. Systematic position of Xyris: flower and seed anatomy. **International Journal of Plant Sciences** 160:795-808, 1999.

SCATENA, V.L.; BOUMAN, F. Embryology and seed development of *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* (Koer) Ruhland (Eriocaulaceae). **Plant Biology** 3:341-350, 2001.  
SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA. **A importância do Açaí no Contexto Econômico, Social e Ambiental do Estado do Pará**. Belém, 2011.  
Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras.../App\\_Açai.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras.../App_Açai.pdf)>  
acesso em: 20 de novembro de 2012. **Apud** COSTA, L. S. **Utilização do caroço de açaí como leito filtrante no tratamento de água de abastecimento e residuária**. Dissertação de mestrado em Engenharia civil (Recursos hídricos e saneamento ambiental), Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

SEKHAR, K. N. C.; DEMASON, D A. Quantitative ultrastructure and protein composition of date palm (*Phoenix dactylifera*) seeds: a comparative study of endosperm vs. embryo. **Am. J. Bot.** 75:323–329, 1988.

SHI, D. Q.; YANG, W. C. Ovule development in *Arabidopsis*: Progress and challenge. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 74–80, 2011.

SILVA, E. S.; OLIVEIRA, F. A.; PENA, H. W. A.: "Uso e comercialização de produtos florestais não madeireiros da área de concessão florestal Mamuru- Arapiuns, estado do Pará-Amazônia-Brasil", **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, Número 201, 2014.

SILVA, I. T. et al. **Uso do caroço de açaí possibilidade de desenvolvimento sustentável do meio rural, da agricultura familiar e de eletrificação rural no estado do Pará.** Disponível em <<https://goo.gl/cVbpCQ>> Acesso em 13 de setembro de 2016.

SILVA, R. S., RIBEIRO, L. M., MERCADANTE-SIMÕES, M. O, NUNES, Y. R. F., LOPES, P. S. N. Seed structure and germination in buriti (*Mauritia flexuosa*)—the swamp palm. **Flora**, v. 209, n. 11, pag. 674-685, nov, 2014.

SOARES, E. L. S. **Ontogenia da semente e análise proteômica do integumento interno de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae)**, Tese de Doutorado em Agronomia (Fitotecnia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**, baseado em APG II. Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP. 704 p., 2008.

STRUDWICK, J.; SOBEL, G.L. Uses of *Euterpe oleracea* Mart. In the amazon estuary, Brazil. In: BALICK, M.J., ed. The palm- tree of life: biology, utilization and conservation. **Advances in Economical Botany**, New York, v.6, p. 225-253, 1986.

SYAHANIM, S. et al. Identification of differentially expressed proteins in oil palm seedlings artificially infected with *Ganoderma boninense*: a proteomics approach. **Journal of Oil Palm Research**, Vol. 25 No. 3 pp. 298-304, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª ed. Artmed, Porto Alegre, 918 p, 2013.

TOMLINSON, P. B. The structural biology of palms. **Clarendon Press**, Oxford. 477p, 1990.

TOMLINSON, P.B. Essays on the morphology of palms; germination and seedlings. **Principes**, v. 4, n. 2, p. 56-61, 1960.

TOWBIN, H.; T. STAEGELIN. "Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications."

**Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 76, n. 9, p. 4350-4354, 1979.

TSAI, W. C. et al. The role of ethylene in orchid ovule development, **Plant Science**, v. 175, n. 1-2, p. 98-105, 2008.

UHL, N. W. Developmental studies in *Ptychosperma* (Palmae). II. The staminate and pistillate flowers. **American Journal of Botany**, [S.l.], v.63, p.97-109, 1976.

VALLEDOR, L.; JORRIN, J. Back to the basics: maximizing the information obtained by quantitative two dimensional gel electrophoresis analyses by an appropriate experimental design and statistical analyses. **J Proteomics**, 74(1):1-18, 2011.

VASCONCELOS, E. A. R. et al. Protein extraction from cowpea tissues for 2-D gel electrophoresis and MS analysis. **Chomatographia**, 62, 447-450, 2005.

VENTURELLI, M.; BOUMAN, F. Embryology and seed development in *Mayaca fluviatilis* (Mayacaceae). **Acta Botanica Neerlandica** 35:497-516, 1986.

ZOU, F. et al. Microsporogenesis, megasporogenesis and male and female gametophyte development in *Feijoa sellowiana* (Myrtaceae). **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 18, n. 3, p. 637-642, 2016.