

ASPECTOS DA ANATOMIA E MORFOLOGIA DE AMÊNDOAS E PLÂNTULAS DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL

Ivo Pereira de Camargo¹, Evaristo Mauro de Castro² e Manuel Losada Gavilanes²

RESUMO: Os estudos a respeito de propagação de plantas envolvem os conhecimentos sobre as sementes e suas transformações até a formação da plântula. O conhecimento das estruturas morfológicas das sementes pode contribuir para um melhor entendimento do processo de germinação. O objetivo deste trabalho foi descrever aspectos morfo-anatômicos de amêndoas e plântulas de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (castanheira-do-brasil - Lecythidaceae), caracterizando os tecidos responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas. Amêndoas de castanheira, antes e 45 dias após a sementeira e plântulas retiradas aos 120 dias da sementeira foram submetidas a técnicas usuais em botânica, para confecção de lâminas e análise de tecidos. A amêndoa da castanheira é composta, principalmente, por tecidos parenquimáticos delimitados por um anel de tecido meristemático, sendo estes envolvidos por uma camada epidérmica e uma película lignificada. O epicótilo e a raiz primária são formados dos tecidos meristemáticos preexistentes localizados, preferencialmente, nas regiões dos pólos caulinar e radicular. A estrutura anatômica do embrião explica, em parte, o lento processo germinativo nesta espécie e relaciona-se com o sucesso em sua dispersão em condições naturais.

PALAVRAS CHAVE: *Bertholletia excelsa*, castanheira-do-brasil, amêndoas, plântulas, Lecythidaceae.

ANATOMY AND MORPHOLOGY OF BRAZIL NUT KERNELS AND SEEDLINGS

ABSTRACT: The studies in plant propagation require basic knowledge about the seed and their transformation until seedlings formation. The knowledge of anatomic and morphologic characteristics of seeds and seedlings may contribute to the germination process understanding. The objective of this work was to describe anatomic and morphologic aspects of kernels and seedlings of brazil nut, characterizing the tissues responsible to the germinating structures differentiation. The kernels, before and 45 days after sowing, and seedling were removed from the seedbed and submitted to usual botanical techniques to make slides and to tissue analysis. The kernel or embryo of brazil nut is chiefly composed of parenchymatic tissues delimited by a meristematic ring. The tissues are covered by an epidermic layer and a lignified pellicle. The epicotyl and primary root appear with the differentiation of pre-existent meristematic tissues preferentially in the epicotyl and radicular pole. The anatomic structure of embryo explain in part the slow germinative process in this tree species and are correlated with the success of the dispersal process in natural condition.

KEY WORDS: Brazil nut, anatomy, morphology, kernels, seedlings, *Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae.

¹ Professor do Departamento Fitotecnia/Fitossanidade/UFGM – Av. Fernando Corrêa s/ nº, CEP 78060-900, Cuiabá, MT.

² Professores do Departamento de Biologia/UFLA – Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, emcastro@ufla.br; gavilane@ufla.br.

1. INTRODUÇÃO

Estudos sobre sementes e suas transformações até a formação da plântula envolvem conhecimentos básicos. Para Crestana e Beltrati (1988), estudos anatômicos e morfológicos da germinação de sementes de espécies florestais tropicais são fundamentais e urgentes, à medida que cresce a demanda por seus produtos, bem como são reduzidas drasticamente as populações naturais em face das alterações ambientais provocadas principalmente pelo desmatamento continuado.

Na propagação de *Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl. (castanheira-do-brasil) utiliza-se basicamente a semente da amêndoa em substrato de areia, com posterior repicagem da plântula para embalagens plásticas, antes da abertura das folhas primárias (Müller, 1982). Esta espécie apresenta processo germinativo lento, sendo que a protrusão radicular e da parte aérea, partindo da amêndoa, pode apresentar desuniformidade (Müller *et al.*, 1980) e que, segundo Reis, Carvalho e Müller (1979), pode ser explicada pela presença de um embrião não diferenciado por ocasião da dispersão das sementes.

Barroso (1978) considera o embrião do gênero *Bertholletia* como sendo conferruminado, descrevendo-o como uma estrutura ovóide, elipsóide ou claviforme, sem delimitação de cotilédones nem de eixo hipocótilo-radícula, o que foi confirmado por Beltrati (1990). Já, Prance e Mori (1978) definiram-no como sendo do tipo macropodial, sem presença de cotilédones diferenciados e com sua maior parte constituída pelo hipocótilo.

Corner (1976) observa que a semente da castanheira apresenta um embrião do tipo hipocotilar e dois tegumentos.

Embrião hipocotilar também foi observado em pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), em que o hipocótilo tem função de acumular material de reserva (Barradas, 1973),

observando-se, ao redor do hipocótilo, um anel de tecido procambial, que apresenta grande capacidade regenerativa, sendo também para sementes de castanheira.

Camargo, Carvalho e Vieira (1996) demonstraram que as áreas vitais para diferenciação da raiz e parte aérea se localizam em tecidos hipodérmicos na periferia das amêndoas, preferencialmente nos pólos basal e apical. Estes autores, porém, não avaliaram a natureza destes tecidos quanto ao aspecto anatômico, bem como qual o seu papel na diferenciação das estruturas germinativas.

Com o estudo morfo-anatômico das amêndoas e plântulas de castanheira, pôde-se conhecer melhor o processo germinativo desta espécie, para subsidiar os trabalhos de produção de plântulas e também compreender melhor o processo de estabelecimento desta espécie, em condições naturais da floresta. O conhecimento da natureza dos tecidos das sementes e das plântulas também é importante para estudos de propagação *in vitro*.

Descrever aspectos anatômicos e morfológicos de amêndoas e plântulas de *B. excelsa*, caracterizando os tecidos responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas, foi o objetivo deste trabalho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl. (castanheira-do-brasil) foram coletadas na região norte do estado de Mato Grosso, município de Paranaíta, em dezembro de 1995. As sementes foram embebidas, por 48 horas, em água corrente e prensadas para retirada do tegumento lenhoso. Amostras de amêndoas foram fixadas para estudos botânicos e semeadas em canteiros com areia, de acordo com as recomendações de Müller (1982).

Aos 45 e 120 dias após a sementeira, respectivamente, amostras de amêndoas e de

plântulas foram coletadas. As plântulas com raiz e pelo menos uma folha primária foram selecionadas. O material botânico (raiz, caule, folha e semente) foi fixado em FAA 70% (Johansen, 1940) por 72 horas e posteriormente conservado em álcool 70^oGL.

Lâminas permanentes foram preparadas com as técnicas usuais de inclusão em parafina após desidratação em série alcoólica etílica (Johansen, 1940; Sass, 1951). Foram efetuados cortes histológicos utilizando-se micrótono rotatório nas porções apical (pólo caulinar), mediana e basal (pólo radicular) das amêndoas, com base na descrição efetuada por Müller (1982). Nas plântulas, foram realizados cortes nas porções apical e basal da raiz primária, respectivamente a 10 mm do ápice da raiz e da inserção desta na amêndoa, na porção mediana do caule, em região internodal e na porção mediana do hipocótilo, representado pelos restos da amêndoa. Nas folhas primárias, efetuaram-se cortes paradermicos nas superfícies abaxial e adaxial e transversais na região da nervura central. Com auxílio de câmara clara adaptada a um microscópio Olympus CBB, foi avaliado o número médio de estômatos por mm², segundo técnica de Laboriau, Oliveira e Salgado-Laboriau (1961). As secções obtidas com auxílio de micrótono, em séries orientadas transversalmente foram, submetidas ao processo de coloração com safranina-azul de astra (Bukatsh, 1972). Foram efetuados também cortes a mão livre, com auxílio de lâmina de barbear e inclusão do material em isopor, sendo estes submetidos à clarificação em solução de hipoclorito de sódio a 20% de produto comercial, por período de três a cinco minutos. O material foi, em seguida, neutralizado com solução de ácido acético a 5% por um minuto. A coloração foi efetuada com imersão em corante verde iodo acético por dois a três minutos, seguindo-se três lavagens em água destilada e imersão em corante vermelho congo por três a cinco minutos, repetindo-se as lavagens (Dop e

Gautié, 1907). Posteriormente, foram montadas lâminas com resina sintética ou água glicerinada e observadas ao microscópio.

Secções transversais da parte mediana da amêndoa foram submetidas a teste com solução aquosa de Sudan IV (Johansen, 1940), para identificação de corpos lipídicos.

Raízes primárias foram observadas sob microscópio estereoscópico Wild, para observação da existência de zona de pêlos absorventes. As preparações e análises foram efetuadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise histológica das amêndoas pode-se observar a presença de seis tecidos ou grupos de células com características distintas (Figura 1A). Após a retirada do tegumento lenhoso, as amêndoas ficaram envoltas por uma película de coloração marrom que, em determinados locais, ficava aderida ao tegumento, expondo o tecido interior. Esta película se apresenta como um tecido bastante lignificado, composto por células mortas sem distinção visível entre si e pouco aderente ao tecido interno adjacente.

O tecido formado por células comprimidas é denominado de perisperma (Vaughan, 1970). No entanto, perisperma é um termo que designa tecido de reserva originado do nucelo, segundo Mauseth (1988) e Beltrati (1990). É possível que o tecido em questão faça parte dos tegumentos da semente, uma vez que Corner (1976) indica em Lecythidaceae a presença de óvulos e sementes bitegumentadas, sendo necessária uma análise anatômica de ontogênese da germinação desde a fecundação até a maturação da semente.

O tecido interno adjacente apresenta-se como uma camada epidérmica, bisseriada, com

células de forma tabular e com paredes celulares espessadas (Figura 1B). Para Corner (1976) este tecido é o endosperma, que pode ter de duas a três camadas de células. Ele tem função de proteção, apresentando células diferenciadas, sem capacidade de multiplicação, pois se rompe durante o processo de germinação, nos locais de protrusão de raiz e parte aérea.

Internamente a este tecido epidérmico há uma camada de células globosas, de forma arredondada, tamanho irregular, com paredes

delgadas e presença de corpos de óleo. Ele apresenta a primeira camada distinta, unisseriada, com células circulares, menores e mais uniformes (Figura 1C). Para Vaughan (1970), trata-se de um tecido parenquimático que compõe a maior parte da amêndoa da castanheira. Cutter (1986) considera que os parênquimas apresentam células relativamente não especializadas, com potencial para retomada

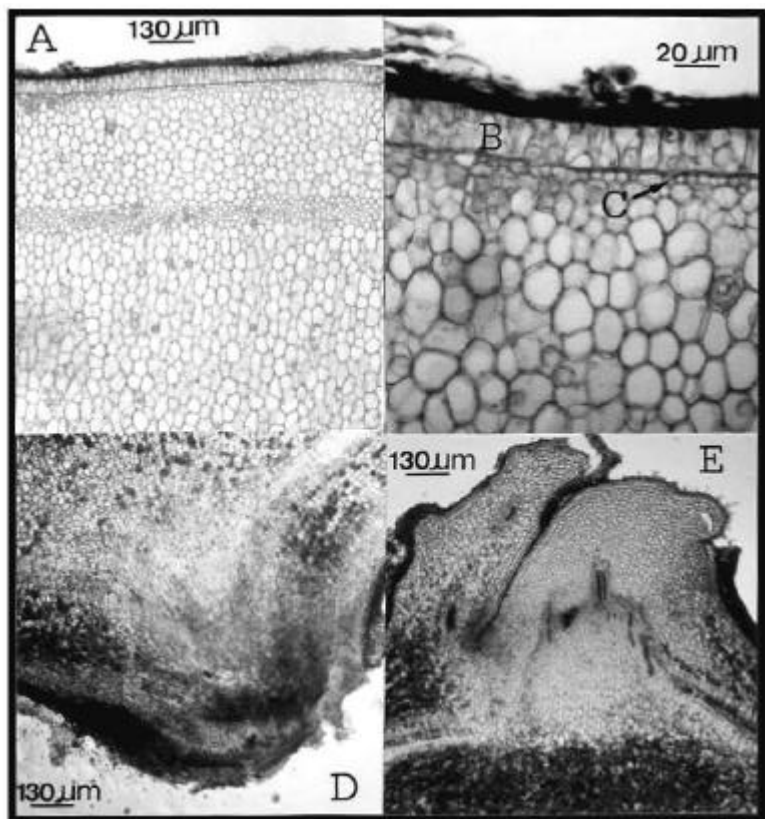


Figura 1. Seções transversais de amêndoas de *Bertholletia excelsa*. A - Corte evidenciando os seis tecidos distintos. B e C - Camada epidérmica e primeira camada de células do tecido parenquimático. D - Calosidades originadas do tecido parenquimático, precedendo a protrusão de raiz. E - Epicótilo.

Figure 1. *Transversal sections of Bertholletia excelsa* kernels. A – Slice showing six separate tissues. B and C – Epidermal layer and first cell layer of parenchymatic tissue. D – Callus originating from parenchymatic tissue, preceding root protrusion. E – Epicotil.

de atividade meristemática, podendo apresentar diversas atividades funcionais, bem como armazenar material de reserva. Na amêndoa de castanheira, este tecido apresenta grande potencial de proliferação, pois, com 45 dias de sementeira foi observada, com base nele, a formação de calosidades que precediam a protrusão das estruturas germinativas (Figuras 1D e 1E). As calosidades que precediam o aparecimento do epicótilo apresentavam epiderme com tricomas, possivelmente originada da primeira camada unisseriada do parênquima.

Anexo a este tecido parenquimático encontra-se outro, de características semelhantes, que preenche todo o conteúdo da amêndoa, porém, com células maiores e mais alongadas. Delimitando os dois, encontra-se um outro, com espessura média de 50 μm , composto por quatro a seis camadas de células pequenas, arredondadas, de tamanho uniforme e de características meristemáticas (Figura 2A), que foi denominado por Vaughan (1970) como anel de tecido procambial. Em amêndoas com 45 dias após a sementeira, pôde-se observar que deste

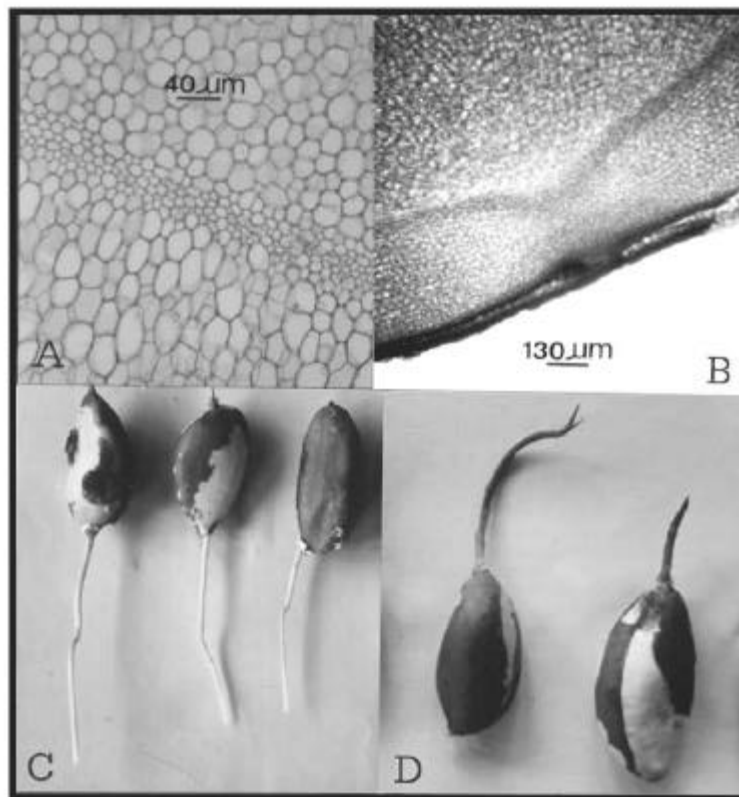


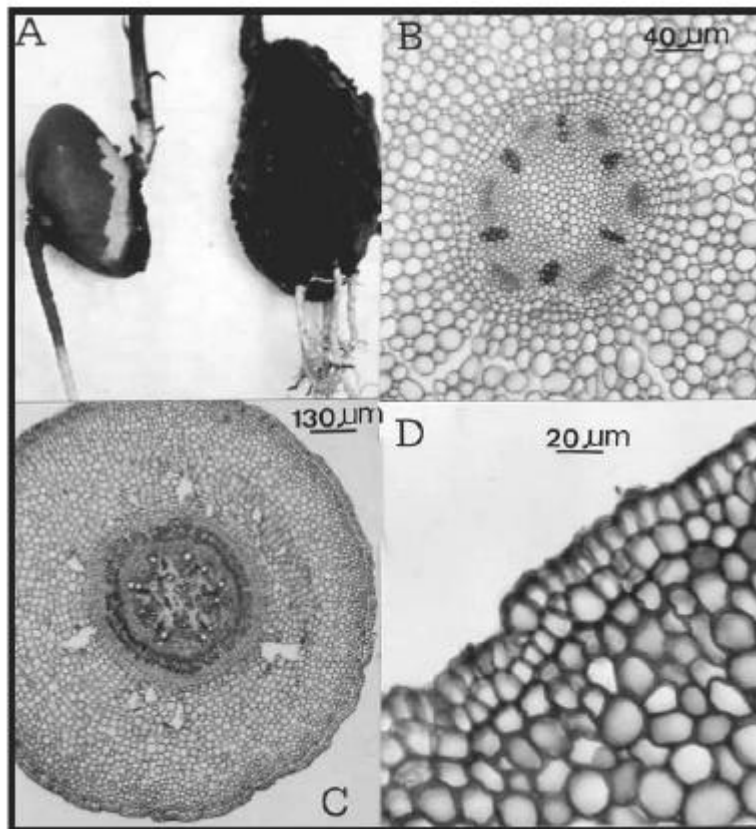
Figura 2. Secções transversais de amêndoas de castanheira-do-brasil. A - Evidenciando o tecido meristemático. B - Formação do meristema da raiz. C e D - Amêndoas de castanheira germinadas, demonstrando a protrusão da raiz primária e parte aérea.
 Figure 2. *Transversal sections of brazil nut kernels. A - Showing meristematic tissue. B - Formation of root meristem. C and D - Germinated brazil nut kernels, showing primary root and epicotyl protrusion.*

tecido meristemático se originam os meristemas apicais da raiz (Figura 2B) e da parte aérea,

preferencialmente nas regiões polares das amêndoas. A presença de corpos de óleo de tamanho variável foi detectada principalmente nas células dos tecidos parenquimáticos.

O início de processo de germinação se deu com a protrusão da raiz primária e, posteriormente, da parte aérea, sendo o inverso

(Figura 2C e 2D). As plântulas avaliadas apresentaram padrão de desenvolvimento uniforme, com presença de um caule e uma raiz primária sem ramificações, emergindo dos pólos da amêndoa. Eventualmente, foram observadas anormalidades como protrusão de estruturas germinativas na região mediana da amêndoa e



também observado, porém, em menor proporção presença de várias raízes (Figura 3A).

Figura 3. A - Anomalias observadas em amêndoas de castanha-do-brasil germinadas. B e C - Cortes transversais nas regiões apical e basal da raiz primária de plântulas de castanha. D - Detalhe para a rizoderme.

Figure 3. *Anomalies observed in germinated brazil nut kernels. B and C - Transversal sections in apical and basal region of primary root of brazil nut seedling. D - Detailed view of rizodermis*

Observou-se na região apical da raiz, em secções transversais, a presença de estrutura primária, com rizoderme bisseriada, cortex, endoderme e os feixes de xilema e floema se alternando (Figura 3B). Na região basal da raiz observa-se estrutura secundária com a presença do câmbio vascular formando um anel que delimita o xilema no interior da raiz e floema, na parte mais externa (Figura 3C). Nas secções não foi detectada a presença de pêlos absorventes, o que indica que a absorção de água e sais se dá diretamente pelas células epidérmicas, justificando a ausência de cutícula ou paredes celulares espessadas na camada epidérmica (Figura 3D). Em todos os cortes efetuados na raiz, foi observada a presença de espaços intercelulares, formando grandes lacunas, que podem ser denominadas de aerênquimas. Segundo Esau (1974), estes espaços são característicos do córtex da raiz, podendo ser encontrados tanto em espécies de ambientes úmidos, como em regiões áridas.

Nas secções do caule observou-se a presença de epiderme com tricomas simples unicelulares, parênquima cortical e medular e o câmbio, formando um tecido contínuo que separa os elementos vasculares de xilema para o interior e dos elementos de floema, para o exterior (Figura 4A). Nota-se, no parênquima cortical, a presença de inúmeros feixes corticais compostos por floema, câmbio interfascicular e xilema (Figura 4B), bem como a presença de tricomas e lenticelas (Figura 4C) no tecido epidérmico.

Os tecidos foliares apresentam estrutura semelhante à descrita por Medri e Lleras (1979) em mudas de castanheira, com cerca de 30 centímetros de altura. A epiderme apresenta cutícula delgada e tricomas simples unicelulares, mais numerosos na superfície abaxial. Os estômatos estão presentes na superfície abaxial, em densidade média de 420 por mm^2 . O tecido fundamental é composto por um parênquima paliádico unisseriado, abaixo da epiderme

adaxial e o parênquima lacunoso. Os feixes vasculares são mais desenvolvidos na nervura central, ocupando porção significativa da área da secção (Figura 4D).

A denominação exata dos tecidos que compõem as amêndoas envolve estudos ontogenéticos e embriológicos. No entanto, a descrição dos tecidos em diversas etapas do processo germinativo indica que a amêndoa da castanheira, no momento da maturação e dispersão da semente, não apresenta tecidos em estágio avançado de diferenciação celular, como os que formam a plúmula, radícula e cotilédones, normalmente observados em sementes. A organização dos tecidos indica que a denominação de embrião hipocotilar parece ser a mais correta para esta espécie, pois, de tecidos meristemáticos preexistentes formam-se o epicótilo e a raiz primária.

A desuniformidade e o longo período requeridos para a germinação da castanheira se devem, possivelmente, à necessidade de tempo para que ocorra o processo de embebição, ativação enzimática e diferenciação dos tecidos meristemáticos existentes na amêndoa, o qual pode ser afetado pela grande quantidade de reservas do embrião e/ou por um balanço hormonal interno. Para Mayer e Shain (1975), em sementes oleaginosas, a germinação está ligada ao metabolismo de lipídios, regulado, entre outros fatores, pela ação hormonal.

O êxito na regeneração da castanheira, em condições naturais, depende, entre outros fatores, de tempo para que as sementes sejam dispersas e encontrem condições favoráveis à germinação. A existência de tecido meristemático circundando a amêndoa leva a crer que a semente tenha boa capacidade de regeneração, mesmo sofrendo danos mecânicos por predadores e dispersores ou ataque de patógenos.

A estrutura anatômica das amêndoas, caule e folhas primárias indica a possibilidade de sua utilização como fonte de explantes para estudos

de propagação *in vitro*, mediante a cultura de tecidos vegetais, devido à significativa presença de tecidos meristemáticos e parenquimáticos pouco especializados e com bom potencial para morfogênese.

4. CONCLUSÕES

A amêndoa de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. é composta principalmente por tecidos parenquimáticos delimitados por um anel de tecido meristemático, envoltos por uma camada epidérmica e uma película lignificada.

A parte aérea e a raiz primária são formadas dos tecidos meristemáticos preexistentes localizados, preferencialmente, nas regiões dos pólos caulinar e radicular.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRADAS, M.M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui), em várias fases de desenvolvimento. **Revista de Biologia**, Lisboa, v.9, n.1-4, p.69-93, 1973.
- BUKATSH, F. Benerkungen zur doppelfarbung astrablau-safranina. **Mikrokosmos**, v. 61, p.255, 1972.
- BELTRATI, C.M. **Morfologia e anatomia de sementes**. Rio Claro: UNESP, 1990. 100p.
- CAMARGO, I.P.; CARVALHO, M.L.M.; VIEIRA, M. das G.G.C. Caracterização da viabilidade e da deterioração em amêndoas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl) pelo teste de tetrazólio. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15., 1996, Gramado, **Anais...** Gramado: CESM/RS-FELAS, 1996. p. 19.
- CORNER, E.J.H. **The seeds of dycotiledons**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. v.1, 552p.
- CRESTANA, C.M.; BELTRATI, C.M. Morfologia e anatomia das sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-caesalpinioideae). **Naturalia**, São Paulo, v.13, p.45-54, 1988.
- CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal**: Parte I: células e tecidos. São Paulo: Rocca, 1986. 304p.
- DOP,P.; GAUTIÉ, A. **Manual de technique botanique**. Paris: J. Lamane, 1907. 594p.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: EDUSP, 1974. 293p.
- JENSEN, W.A. **Botanical microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1962. 408p.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- LABORIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO-LABORIAU, M.L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo. I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.23, n.2, p.237-257, 1961.
- MAUSETH, J. **Plant anatomy**. Menlo Park: Benjamin Cummings, 1988. 560p.
- MAYER, A.M.; SHAIN, Y. Control of seed germination. **Annual Reviews of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 25, p.167-193, 1974.
- MEDRI, M.E.; LLERAS, E. Ecofisiologia de plantas da amazônia. Anatomia foliar e ecofisiologia de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Castanha -do-Pará) - Lecythidaceae. **Acta Amazônica**, Manaus, v.9, n.1, p.15-23, 1979.
- MULLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 16).
- MÜLLER, C.H.; RODRIGUES, I.A.; MÜLLER, A.A.; MÜLLER, N.R.M. **Castanha-do-brasil**: resultados de pesquisa. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1980. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Miscelânea, 2).
- PRANCE, G.T.; MORI, S.A. Observations on the fruits and seeds of neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, New York, v.30, p.21-33, 1978
- REIS, G.G. dos; CARVALHO, J.E.U.; MÜLLER, C.H. **Calibração do teste de tetrazólio para sementes de castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1979. 9p. (EMBRAPA-CPATU. Comunicado Técnico, 17).
- SASS, J. **Botanical microtechnique**. Iowa: Iowa College Press, 1951. 228p.
- VAUGHAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds**. London: Chapman & Hall. 1970. 279p.