

ESTUDOS MORFO-ANATÔMICOS DE SEMENTES DE DOIS GENÓTIPOS DE MAMÃO (*Carica papaya* L.)¹

SÔNIA APARECIDA DOS SANTOS², ROBERTO FERREIRA DA SILVA³, MESSIAS GONZAGA PEREIRA⁴, EDUARDO ALVES⁵, JOSÉ DA CRUZ MACHADO⁶, FLÁVIO MEIRA BORÉM⁷, RENATO MENDES GUIMARÃES⁸, ELIZABETH ROSEMEIRE MARQUES⁹

RESUMO - A propagação do mamoeiro *Carica papaya* L. é realizada por meio de mudas oriundas das sementes. Apesar da importância da semente do mamoeiro para a formação dos pomares comerciais, estudos morfológicos e anatômicos neste sentido são raros. O presente trabalho descreve aspectos morfológicos e anatômicos das estruturas que constituem as sementes de dois genótipos do mamoeiro, *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45*. *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* pertencem aos dois grandes grupos 'Solo' e 'Formosa' respectivamente. Os referidos genótipos foram oriundos do banco de germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) em parceria com Empresa Caliman Agrícola S.A. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Para a caracterização morfológica procedeu-se a dissecação e observação das estruturas utilizando bisturi, pinças e sexploradora sob microscópio estereoscópio. Para a caracterização anatômica utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia de rotina do Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFLA e observadas a alto vácuo em diversos aumentos no microscópio Leo Evo 40, à distância de trabalho de 10 mm. As medições foram realizadas usando-se o Software Leo User Interface (versão Leo 3.2). Os estudos morfológicos permitiram identificar as estruturas que compõem a semente do mamoeiro e os estudos anatômicos permitiram observar a existência de diferenças estruturais e dimensionais entre as células dos dois genótipos estudados.

Termos para indexação: *Carica papaya* L., morfologia, anatomia, sementes.

MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STUDIES OF SEEDS OF TWO GENOTYPES OF PAPAYA *Carica papaya* L.

ABSTRACT – The papaya (*Carica papaya* L.) propagation is made by seedlings produced from true seeds. Although the use of seeds in the implementation of commercial papaya orchards is well documented in literature, studies on the anatomy and morphology of these structures are in small number. In present work morphological and anatomical aspects of the seeds from two papaya genotypes *Sunrise Solo 783* and *Formosa Roxo 45*, belonging to two grand groups 'Solo' and 'Formosa' are

¹Submetido em 30/05/2008. Aceito para publicação em 25/11/2008. Parte da tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro UENF-Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro-Brasil (soniarmg523@hotmail.com)

²Eng. Agr. Dr. Pós graduado da UENF - (soniarmg523@hotmail.com)

³Eng. Agr., Ph.D. Prof. Titular, Departamento de Tecnologia de Sementes - UENF, roberto@uenf.br;

⁴Eng. Agr., Ph.D. Prof. Adjunto, Departamento de Genética e Melhoramento Genético de Plantas - UENF, messias@uenf.br;

⁵Eng. Agr., Dr. Professor Adjunto, Departamento de Fitopatologia - UFLA,

ealves@ufla.br;

⁶Eng. Agr., Dr. Professor Titular, Departamento de Fitopatologia - UFLA, machado@ufla.br;

⁷Eng. Agr., Dr. Professor Associado 2, Departamento de Engenharia Agrícola - UFLA, flavioborem@ufla.br

⁸Dr. Professor Associado, Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras MG-UFLA, renatomg@ufla.br;

⁹Engenheira Agrônoma-MSc. Ciência dos Alimentos-UFLA, bethagro@yahoo.com.br.

described. These genotypes were obtained of Gemoplasm Bank of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) in cooperation with the company Caliman Agricola S.A. The work was carried out at the Eletronic Microscopy and Ultra-strutural Analisys Laboratory of the Universidade Federal de Lavras (UFLA). To make the morphological characterization, the seeds were dissected carefully by hand and observed in the stereomicroscope. For the anatomic studies, seeds were prepared according to the routine protocol of the LME and observed in scanning electronic microscope Leo Evo 40, at work distance of 10 mm under high vacuum conditions. Measurements were made using the Software Leo User Interface (Version Leo 3.2). The results of the morphological studies provide adequate conditions to observe the different structures of the papaya seeds and from anatomic studies it was possible to verify structural and dimensional differences among the cells of the two genotypes under investigation.

Terms for indexation: *Carica papaya* L., morphology, anatomy, seeds.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro *Carica papaya* L. é uma frutífera de grande importância econômica, sendo cultivada principalmente nos países tropicais possuindo ótima aceitação no mercado mundial. Embora possa ser propagado assexuadamente por meio de enxertia, estaquia, ou cultura de tecidos, comercialmente, o mamoeiro é propagado por meio de mudas oriundas de sementes. É considerada uma frutífera de crescimento rápido e elevada precocidade, iniciando o florescimento entre três e quatro meses, propiciando as primeiras colheitas a partir do oitavo mês (Lyra et al., 2007).

O mamoeiro cultivado possui três tipos de flores: feminina, masculina e hermafrodita. Segundo Hofmyer (1938) e Storey (1938) a herança do sexo nesta espécie é monogênica com três alelos designados pelos símbolos m, M¹ e M². Indivíduos com os genótipos mm, M¹m M²m, são respectivamente, femininos, masculinos e hermafroditos. Em geral, o mamoeiro é classificado conforme a característica do fruto, sendo dividido em dois grandes grupos: o 'Solo' e 'Formosa'. O grupo 'Formosa' abrange híbridos F1, entre eles se encontra o Taninung 01, resultado do cruzamento de um tipo de mamão de polpa vermelha, da Costa Rica com o Sunrise Solo.

Dos problemas relacionados com o mamoeiro no Brasil, ressalta-se a limitação de alternativas para a escolha de variedades e híbridos comerciais para o plantio e aliado a isto, o elevado preço das sementes híbridas do mamoeiro do grupo 'Formosa', geralmente importados de Taiwan.

A coleta e introdução de acessos, a conservação e intercâmbio, bem como a caracterização e avaliação de germoplasma são etapas necessárias e imprescindíveis à preservação e utilização de recursos genéticos. Para que a

diversidade genética disponível nos bancos de germoplasma seja utilizada, é necessário que os acessos sejam caracterizados e documentados. Assim, a avaliação de aspectos morfológicos e anatômicos das sementes dos acessos do mamoeiro é importante para fornecer informações sobre o material básico para programas de melhoramento genético.

A caracterização da estrutura da semente do mamoeiro é pouco conhecida, levando muitas das vezes a contradições em relação à terminologia das estruturas das sementes como é o caso da sarcotesta e do arilo. A sarcotesta das sementes de *Carica papaya* L. já foi considerada como arilo, mas estudos relacionados ao desenvolvimento destas sementes mostraram que ela representa o próprio tegumento ou parte dele, não sendo, portanto, uma excrescência do tegumento, como é o arilo (Foster, 1943; Modesto e Siqueira, 1981; Paoli, 2006).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar os componentes estruturais das sementes de dois genótipos de *Carica papaya* L., *Formosa Roxo 45* e *Sunrise Solo 783* pertencentes aos grupos 'Formosa' e 'Solo' respectivamente, utilizando a microscopias eletrônicas de varredura, visando subsidiar programas de melhoramento genético e a conservação do germoplasma do mamoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram conduzidas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estruturais (LME) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Genótipos utilizados: As sementes utilizadas foram provenientes dos frutos de plantas com flores hermafroditas de linhagens do grupo 'Solo' - *Sunrise Solo 783* e do grupo 'Formosa' - *Formosa Roxo 45*, procedentes do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) Campos dos Goytacazes-RJ, em

parceria com a Empresa Caliman Agrícola S.A., localizado em Linhares-ES. Foram utilizados frutos no estágio de maturação 5, conforme descrito por Aroucha (2004). As sementes foram extraídas manualmente, e secas em estufa de acordo com Brasil (1992). A exotesta (sarcotesta) foi retirada por meio de fricção em peneira, sob água corrente. Esta etapa foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Sementes - UENF. As sementes assim previamente preparadas constituíram as amostras, que foram transportadas para a UFLA, embaladas em sacos de papel por 10 h, dentro de uma caixa de isopor com o interior contendo gelo plastificado. No Laboratório de Microscopia Eletrônica - UFLA as sementes foram armazenadas em câmara fria com 60% de umidade e 3,4 °C de temperatura até sua utilização. Foram aplicados os seguintes testes e determinações: **Testes microquímicos:** as amostras das sementes foram submetidas a finos cortes realizados manualmente com lâmina, em placa de petri, sendo utilizados os corantes: Sudan IV para evidenciar lipídios, solução de ácido clorídrico e sulfúrico para localizar cristais de oxalato de cálcio, reagente de Lugol para amido e eosina diluída para identificação de proteínas (Johansen, 1940). **Microscopia eletrônica de varredura:** inicialmente as amostras foram imersas em solução fixativa Karnovsky por 24h. Após a fixação, foram transferidas para o líquido crioprotetor (glicerol 30%), por 30 min., e cortes com bisturi foram realizados longitudinalmente e transversalmente sobre uma superfície metálica colocada em um recipiente contendo nitrogênio líquido. Em seguida, os espécimes foram lavados três vezes em água destilada e, subsequentemente, desidratados em série de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, por três vezes), e logo após submetidos a secagem em aparelho de ponto crítico (Blazers CPD 030). Após a secagem, os espécimes foram montados em stubs com fitas de carbono dupla face, colocada sobre uma película de papel alumínio e cobertos com ouro em evaporador (BALZERS SCD 050). A visualização das amostras foi feita em microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40XVP. Diversas imagens foram geradas e registradas digitalmente a aumentos variáveis. As imagens geradas foram gravadas e abertas em Software Photopaint do pacote Corel Draw 12, onde foram devidamente selecionadas, preparadas e apresentadas neste trabalho. **Medições das imagens geradas:** as medidas foram obtidas usando-se o Software Leo User Interface (versão Leo 3.2) disponível no microscópio eletrônico de varredura para não ocorrerem distorções na escala. **Separação das estruturas:** O tegumento foi retirado cuidadosamente da semente, com bisturi utilizando lâmina 11 com o auxílio de pinça, obtendo-se o endosperma. Após a

retirada do tegumento, e a partir do endosperma promoveu-se a excisão do eixo embrionário com os cotilédones utilizando pinça, bisturi com lâmina 11 e sexploradora. Estes passos foram realizados sob o microscópio estereoscópio (Meiji Techno Co., LTD. - JAPAN) Modelo: RZT/100 STAND e fotografadas no próprio aparelho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia da semente

As sementes secas, maduras e sem sarcotesta de ambos os genótipos, possuem um formato elipsóide, com protuberâncias e coloração externo marrom escuro (Figura 1 A). A exotesta (sarcotesta) consiste da proteção mucilaginosa que reveste a semente, e não apresentada neste trabalho. O endosperma possui coloração branca leitosa, (Figura 1. B) e consistência firme. Em ambos os genótipos observou-se que a semente possui um único eixo embrionário e dois cotilédones bem aderidos ao endosperma, o que dificulta sua excisão e que, apesar de estar bem aderido ao endosperma, o eixo embrionário e os dois cotilédones, constituem uma estrutura individualizada e possuem coloração branca leitosa (Figura 1. C-D). Foi comum encontrar no genótipo *Formosa roxo 45* sementes com três cotilédones, e menos comum no *Sunrise Solo 783*.

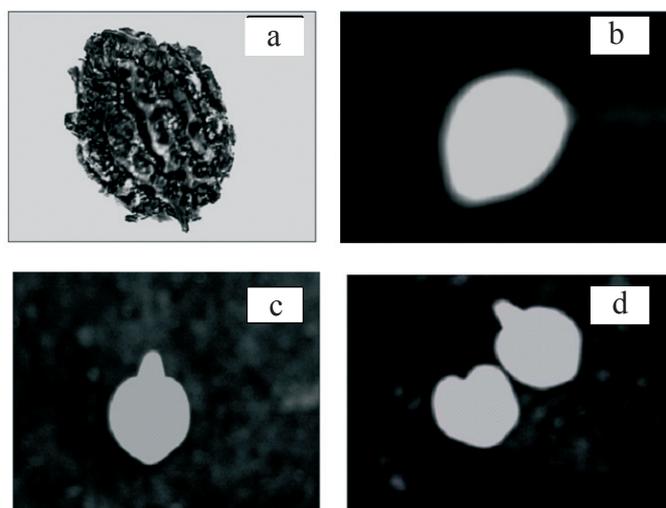


FIGURA 1. Esteriomicrografias de semente de *Carica papaya* L. Aspectos morfológicos: A-vista externa; B-vista externa do endosperma de coloração branca leitosa; C-D - vista externa do eixo embrionário com os dois cotilédones. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural

Por meio de cortes longitudinais das sementes (Figura 2), foi possível observar que as protuberâncias possuem coloração marrom escuro na parte mais externa, constituindo a mesotesta. Na seqüência, encontra-se a endotesta caracterizada por uma camada de coloração marrom claro. Abaixo da endotesta observa-se o tégmen caracterizado por uma camada de tonalidade bege. As camadas mesotesta, endotesta e tégmen constituem a estrutura tegumento que reveste o endosperma.

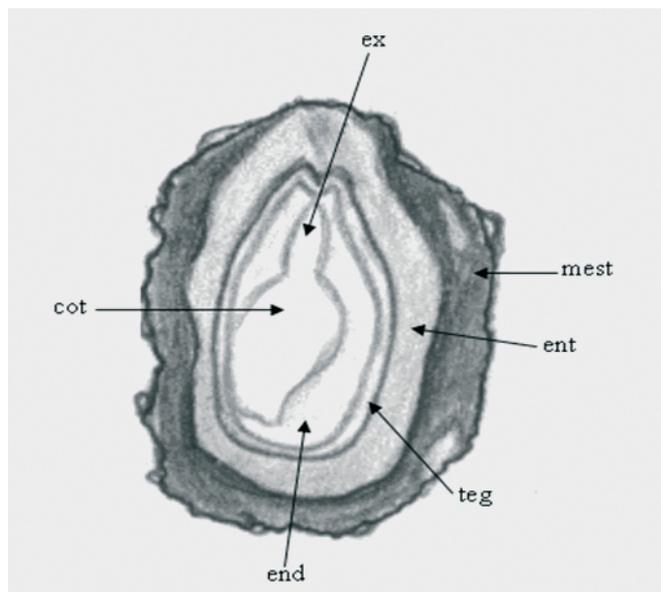


FIGURA 2. Semente de *Carica papaya* L. Corte longitudinal com esquema. Legenda: mest - mesotesta; ent - endotesta, teg - tégmen, cot - cotilédone, end - endosperma, ex - eixo embrionário hipocótilo radícula.

A literatura reporta a presença de poliembrião somática in vivo e ausência de endosperma para sementes do grupo ‘Solo’ “in vivo” (Vegas et al., 2003). O trabalho do referido autor discorda desse, no que tange a coloração das camadas para sementes maduras, que ao invés de terem as camadas com coloração marrom escuro e marrom claro, apresentavam coloração branca. Também foi verificado em sementes zigóticas de mamão do tipo *Amameyada* dois embriões para cada semente, o que não condiz com o verificado nesse trabalho e a presença de endosperma sólido (Vegas et al., 2003). Algumas vezes, penetram no óvulo vários tubos polínicos, promovendo a fecundação das sinérgides e antípodas, antes que estas se desintegram. Este fenômeno também é conhecido como poliembrião zigótica (Modesto e Siqueira, 1981). Neste trabalho, observou-se apenas um embrião zigótico, ocorrendo diversas sementes chochas para o genótipo do grupo ‘Solo’.

Anatomia da semente: As sementes do *Formosa Roxo 45* e do *Sunrise Solo 45* são bitegumentares, ou seja, possuem testa e tégmen conforme constatou Foster (1943), em estudo sobre o desenvolvimento da semente de mamão. Segundo Foster (1943), Modesto e Siqueira (1981) e Gaburro et al. (2007), sementes de *Carica papaya* possuem dois tegumentos oriundos dos integumentos externo e interno do óvulo, sendo que esses integumentos são constituídos por camadas celulares e juntos formam a micrópila.

Nas sementes dos dois genótipos estudados, *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* foram observados os seguintes tecidos: exotesta (sarcotesta - não apresentado) mesotesta e endotesta, (oriundos do integumento externo) e o tégmen (oriundo do integumento interno) (Figura 3). As células são parenquimáticas, variando nas formas, o parênquima é o principal representante do tecido fundamental e é encontrado em todos os órgãos da planta (Esau, 1976).

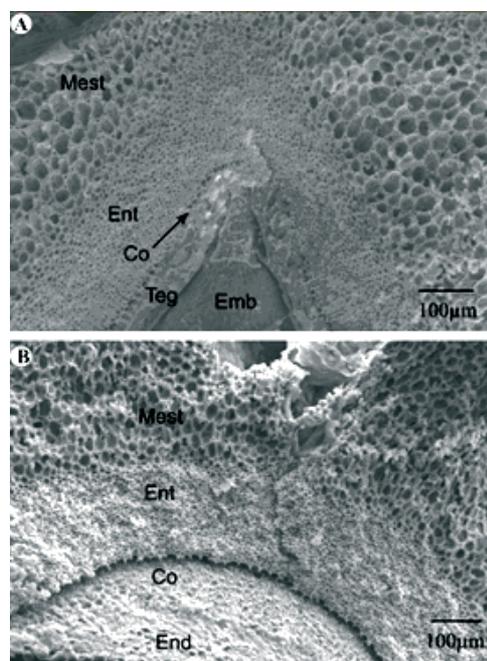


FIGURA 3. Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L, genótipo *Sunrise Solo 783*. A – corte longitudinal com destaque da semente, B – corte longitudinal com destaque do tegumento. Legenda: mest – mesotesta, ent – endotesta, teg – tégmen, ex – eixo embrionário. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural

As células da mesotesta de ambos os genótipos são isodiamétricas, entretanto, no *Sunrise Solo 783* as células são mais longas, quando comparadas com as células da mesotesta de *Formosa Roxo 45*. (Figura 4). Pelas medições realizadas, observa-se que a mesotesta das sementes de *Sunrise Solo 783* e de *Formosa Roxo 45* não possuem as mesmas dimensões:

parede celular de 2,081 μm , semi-eixo maior de 47,70 μm , semi-eixo menor de 32,18 μm no *Sunrise Solo 783*; e parede celular 2,688 μm , semi-eixo maior 38,95 μm e semi-eixo menor 29,75 μm no *Formosa Roxo 45* (Figura 4). As células da epiderme são alongadas, justapostas, semelhando-se a uma paliçada (Figura 5).

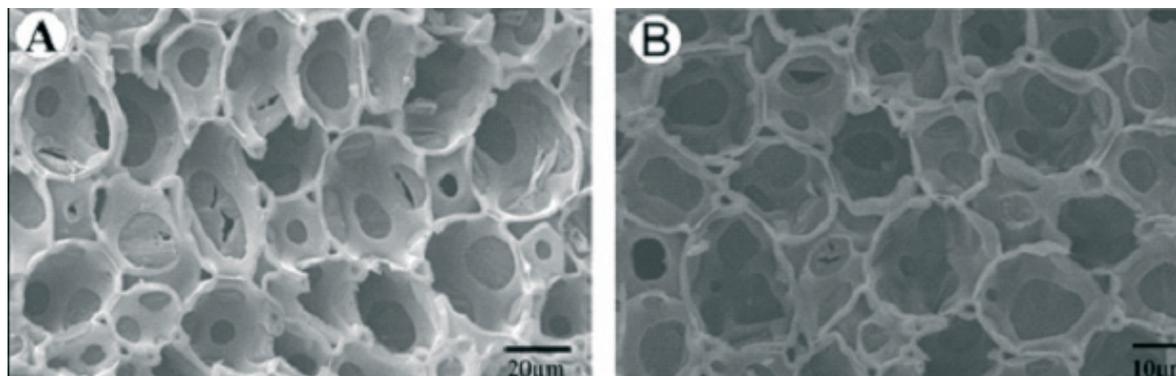


FIGURA 4. Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L.. A - corte longitudinal com destaque das células da mesotesta do *Sunrise Solo 783*, B – corte longitudinal com destaque das células da mesotesta de *Formosa Roxo 45*. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural.

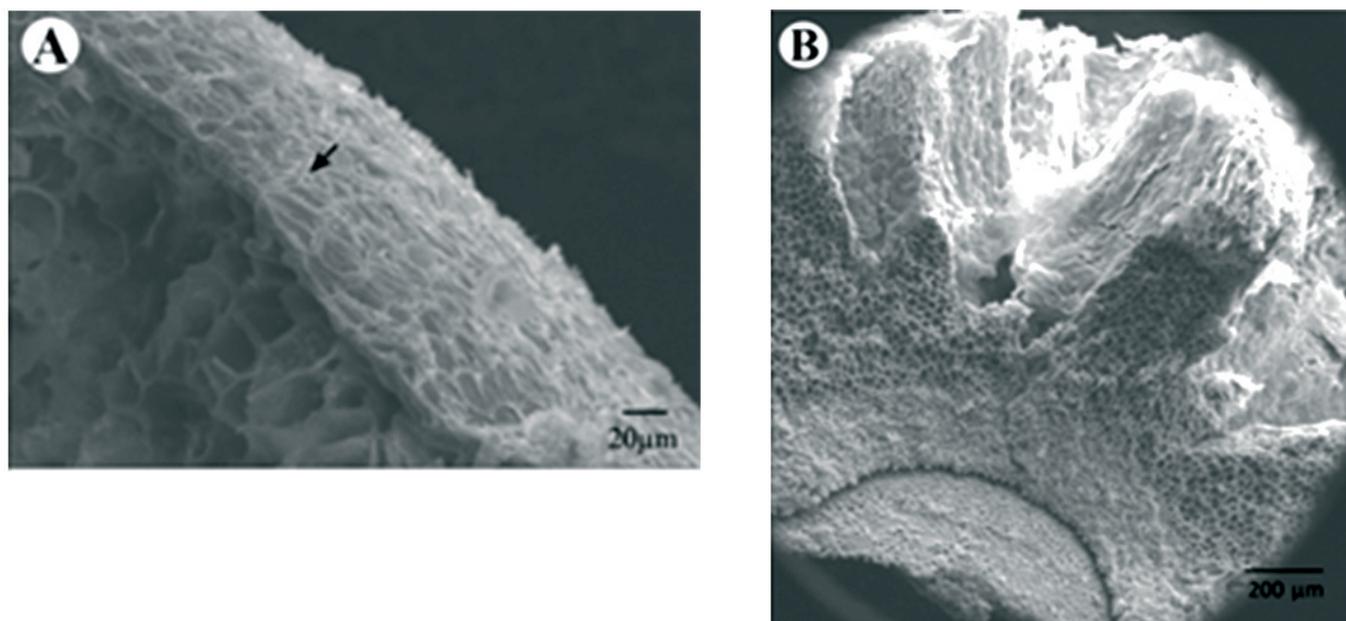


FIGURA 5. Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L. A - corte longitudinal com destaque da epiderme. B - corte longitudinal com destaque das protuberâncias da mesotesta. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural.

A camada de células da mesotesta forma protuberâncias no tegumento das sementes estudadas (Figura 5). Em estudos com *Jacaratia spinosa* Paoli (2006), constatou que o tegumento externo do óvulo é multiplicativo; sofre várias

divisões periclinais, aumentando o número de camadas celulares, sendo que estas divisões não se processam de maneira uniforme em toda a circunferência da semente, formando protuberâncias cônicas em faixas longitudinais.

As células mais internas da endotesta contêm cristais de oxalato, em ambos os genótipos. *Sunrise Solo 783* contém maior quantidade de células cristalíferas em relação à *Formosa Roxo 45*. Observou-se também no genótipo *Formosa Roxo 45* a presença de algumas células da camada cristalífera que são desprovidas dos cristais de oxalato (Figura 6).

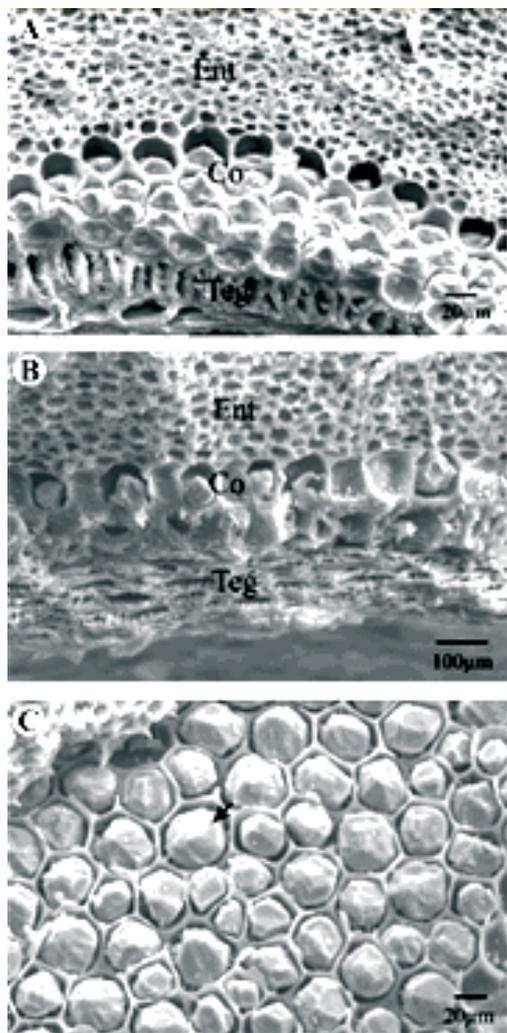


FIGURA 6. Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L. A - corte longitudinal com destaque da endotesta cristalífera e tégmen do Sunrise Solo 783, B - corte longitudinal com destaque de endotesta cristalífera e tégmen do Formosa Roxo 45. Legenda: Ent - endotesta, Co - cristais de oxalato, Teg - tégmen. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural.

O tégmen localiza-se abaixo da camada de células cristalíferas da endotesta em ambos os genótipos. No *Sunrise Solo 45* o tégmen é constituído de uma camada de células de formato alongado, seguido por camadas de células de formato achatado enquanto que no *Formosa Roxo 45*, as células que constituem o tégmen possuem apenas o formato achatado, e em maior quantidade (Figuras 6).

Nos endospermas do *Sunrise Solo 783* e do *Formosa Roxo 45*, observou-se a presença de lipídios e camada protéica de aleurona, mas não se constatou amido, embora o eixo embrionário e os cotilédones sejam ricos nesse polissacarídeo em ambos os genótipos, conforme constatado também por Foster (1943) e Pouyú et al (2007) (Figura 7).

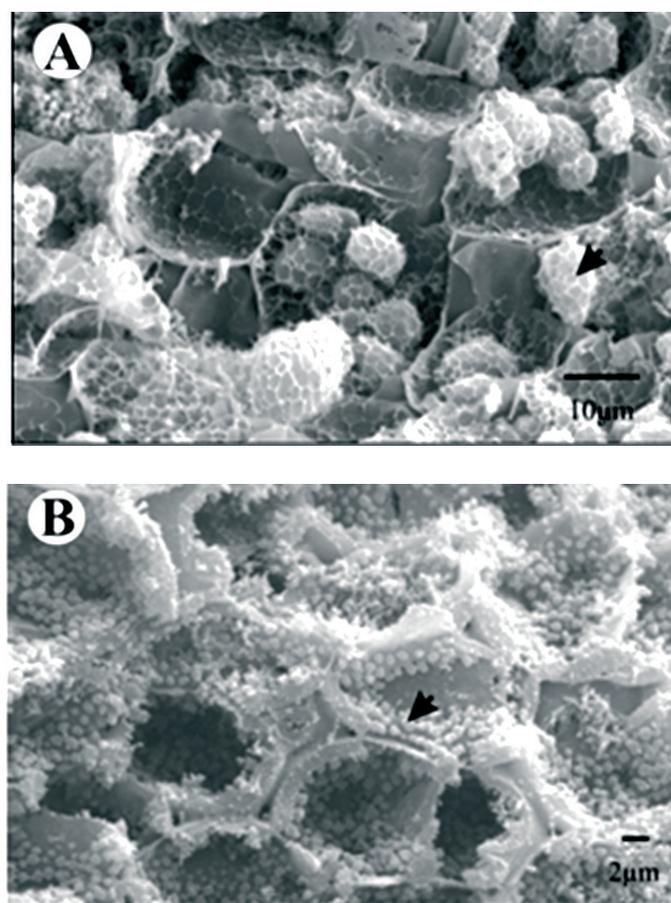


FIGURA 7. Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de *Carica papaya* L. A - corte longitudinal com destaque dos grânulos de amido, B - corte longitudinal com destaque das gotículas de lipídios. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural.

CONCLUSÕES

- O tegumento das sementes dos dois genótipos de mamão *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* é composto por testa (exotesta, mesotesta e endotesta) e tégmen. O endosperma possui coloração branca leitosa. O eixo embrionário e os cotilédones possuem coloração branca leitosa, consistência firme e encontram-se bem aderidos ao endosperma. Em geral, as sementes de ambos os genótipos apresentam apenas um embrião com dois cotilédones, podendo ser encontradas também sementes com três cotilédones.
- As células da mesotesta de *Sunrise Solo 783* são maiores e mais alongadas, além de se apresentarem em mais camadas contendo cristais de oxalato quando comparadas às células do *Formosa Roxo 45*.
- Há diferenças estruturais entre as células do tégmen de *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45*.
- Em ambos os genótipos, as células do endosperma contêm lipídios, camada protéica de aleurona, porém são desprovidas de amido. As células do eixo embrionário e dos cotilédones contêm grânulos de amido.

AGRADECIMENTOS

A FAPERJ pela concessão de bolsa para a primeira autora.

À EPAMIG e à UFLA pelo suporte técnico.

Aos professores PhD. Telma Nair Santana Pereira Coordenadora do Programa de Genético e Melhoramento Genético de Plantas-UENF e Dr. Flávio Meira Borém (UFLA) pelo apoio dado para a formação da equipe de trabalho. A estudante de graduação/UENF, Luiza Costa por desenhar a figura 2.

REFERÊNCIAS

AROUCHA, E.M.M. **Influência do estágio de maturação, armazenamento do fruto e osmocondicionamento na qualidade fisiológica das sementes de mamão (*Carica papaya* L.)**. 2004. 102f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

ESAU, K. **Anatomy of seeds plants**. New York: 3-ed. John Willey Sons, 1976. 293p.

FOSTER, L.T. Morphological and cytological studies on *Carica papaya* L. **Botanical Gazette**, 1943.

GABURRO, N.O.P.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; DAMASCENO JUNIOR, P.C. Determinação do número de óvulos e sementes em mamoeiro (*Carica papaya* L.) hermafrodito e feminino In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 3., **Anais...** Campos dos Goytacazes: UENF/Caliman, 2007. p. 233-236. (Boletim Técnico).

HOFMEYER, J.D.J. Genetical studies of *Carica papaya* L. **South African Department of Agriculture and Science Bulletin**, v.35, p.300-304, 1938.

LYRA G.B.; PONCIANO, N.J.; SOUSA, E.F.; BASTOS LYRA & SUGAWARA, M.T. Modelo de crescimento aplicado ao mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivar UENF/CALIMAM 01. In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 3., **Anais...** Campos dos Goytacazes: UENF/Caliman, 2007. p. 146-149 (Boletim Técnico).

MODESTO, Z.M.M; SIQUEIRA, N.J.B. **Botânica**. São Paulo: E.P.U., 1981. Não paginado.

PAOLI, A.A.S. Semente. In: SOUZA, L.A. **Anatomia do fruto e semente**. Pelotas: UEPG, 2006. p. 128-163.

POUYÚ, S.A.S.; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G.; BRESSAN-SMITH, R.; ALVES, E.; MARQUES, E.R. Nota preliminar: utilização de eletromicroscopia de varredura em sementes de mamoeiro *Carica papaya* L.; no momento da germinação. In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 3., **Anais...** Campos dos Goytacazes: UENF/Caliman, 2007. p. 263-267. (Boletim Técnico).

STOREY, W.B. The primary flower types of papaya and the fruit develop from them. **Proceeding of American Society for Horticultural Science**, Hawaii, v.35, p.80-82, 1938.

VEGAS, S.A.; TRUJILLO, G.; SANDREA, Y.; MATA, J. Apomixia, polienbrionia somática cigótica in vivo em lenhosa. **Interciencia**, v. 28, n. 12, p. 715 – 718, 2003

JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw Hill, New York.