



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-
GRADUAÇÃO PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA**



**Caracterização de diásporos, germinação *in vitro* de embriões
zigóticos e indução de calos para embriogênese somática de
Murmuru (*Astrocaryum ulei* Burret).**

João Paulo da Cunha Lima

RIO BRANCO

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-
GRADUAÇÃO PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA**



João Paulo da Cunha Lima

**Caracterização de diásporos, germinação *in vitro* de embriões
zigóticos e indução de calos para embriogênese somática de
Murmuru (*Astrocaryum ulei* Burret).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Área de Concentração:
Ciências e Inovação
Tecnológica.

Orientador _____

Prof. Dr. Frederico Henrique da Silva Costa

Rio Branco - Acre

2015

Aos meus pais e amigos, por todo o amor e dedicação, por serem pessoas especiais, especialmente a minha mãe pelo investimento, incentivo e carinho na minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Principalmente a Deus, que sempre estará em primeiro lugar na minha vida. Seu fôlego de vida é força que me faz continuar a lutar por todos os meus sonhos e projetos.

À minha família, por sempre acreditar e investir no meu potencial. Em especial a minha mãe, Maria Ana Queiroz da Cunha, que sempre será referência de cuidado e dedicação.

Ao meu irmão André Luis da Cunha Ferreira que sempre terá um lugar mais que especial no meu coração.

Ao professor Dr. Frederico Henrique da Silva Costa a orientação, que sempre serei grato pela amizade e dedicação neste processo, principalmente pela paciência, compreensão e boa vontade de assumir esta orientação.

Aos amigos de mestrado Rutilene Barbosa, Najara Pantoja e Marcelo Dayron, que sempre estiveram torcendo por mim, pela amizade, dedicação e companheirismo.

À equipe do Laboratório de Propagação e Conservação *in vitro* de Plantas da Universidade Federal do Acre – UFAC (Nilcéia, João Bosco, John, Roger, Anny e João Paulo), pela presteza, auxílio e disposição em ajudar durante a elaboração deste trabalho.

À Universidade Federal do Acre e Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

Aos professores do mestrado, que acreditaram no meu potencial e capacidade.

Enfim, a todos que acompanharam e contribuíram direta ou indiretamente para a realização dessa pesquisa.

“Combati o bom combate, completei a corrida, perseverei na fé!”.

II Timóteo 4:7

RESUMO

Dentre as espécies amazônicas não domesticadas com grande potencial econômico para produtos não-madeireiros, destaca-se a espécie de palmeira de murmuru (*Astrocaryum* spp.). A utilização de técnicas biotecnológicas tem demonstrado resultados promissores, como uma importante estratégia de domesticação e conservação de espécies vegetais. O objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação de medição das sementes e diásporos, verificar a germinação *in vitro* de embriões zigóticos e realizar a indução de calos para embriogênese somática em murmuru a partir de embriões zigóticos. O estudo foi conduzido no Laboratório de Propagação e Conservação *in vitro* de Plantas da Universidade Federal do Acre – UFAC, Rio Branco, AC. O trabalho foi realizado em dois experimentos, inicialmente realizou-se a caracterização de medição dos diásporos e amêndoas de murmuru através de procedimentos sequenciais e individual. Em seguida, foi estabelecido o experimento de germinação *in vitro* de embriões zigóticos em meios de cultivos que consistiram de três formulações (MS, WPM e White) associados à sacarose em diferentes concentrações (15, 30 e 45 g. L⁻¹) após 63 dias, foi avaliado a porcentagem de germinação, altura da parte aérea (cm), comprimento do haustório (cm) e comprimento da parte radicular (cm). Resultados significativos foram obtidos para as características de medição, pois se observou que as informações quanto a descrição de medição apresentou uma variação entre as populações da mesma espécie. Os resultados obtidos a partir dos 63 dias de avaliação apresentou um percentual de germinação de 49,07%, em que a maior porcentagem de germinação foi obtida utilizando embriões zigóticos inoculados no meio MS (61,11%), seguidos de WPM (47,22%) e White (38,89%). Para as características de comprimento da parte aérea e tamanho dos haustório, os embriões cultivados em meio MS foram os melhores resultados, diferindo estatisticamente dos embriões submetidos no meio WPM e White. Para o comprimento da parte radicular, o meio MS e WPM foram os melhores resultados comparando com o meio White. Por último, os embriões foram induzidos com meio MS, suplementado com diferentes concentrações de Picloram (0; 56,25; 112,5; 225,0; 450,0 µM) após 120 dias foi verificado a formação de calos, foram realizadas a caracterização morfológica.

Palavras-chave: calos; indução; germinação *in vitro*; murmuru.

ABSTRACT

Among the Amazonian non-domesticated species with great economic potential for non-timber products, there is the kind of murmuru palm (*Astrocaryum* spp.). The use of biotechnological techniques have shown promising results, as an important strategy of domestication and conservation of plant species. The aim of this study was the evaluation of measurement seeds and diaspores, check the *in vitro* germination of zygotic embryos and perform the callus induction for somatic embryogenesis in murmuru from zygotic embryos. The study was conducted in Propagation and Conservation Laboratory *in vitro* plants of the Federal University of Acre - UFAC, Rio Branco, AC. The study was conducted in two experiments, initially held the characterization measurement of the seeds and almonds murmuru through sequential procedures and individual. Then the experiment *in vitro* germination of zygotic embryos in media crops consisting of three formulações was established (MS, WPM and White) associated with sucrose at different concentrations (15, 30 and 45 g. L⁻¹) after 63 days, it evaluated the percentage of germination, shoot height (cm), haustoria length (cm) and length of roots (cm). Significant results were obtained for the measurement features, as it noted that information concerning the measurement of description showed a variation among populations of the same species. The results obtained from the 63 day trial showed a 49.07% germination percentage, where the largest percentage of germination was obtained using zygotic embryos inoculated in MS medium (61.11%), followed WPM (47, 22%) and White (38.89%). For the shoot length features and size of the haustorium, embryos cultivated in MS medium were the best results, differing statistically from embryos submitted in the middle WPM and White. For the length of roots, and MS medium WPM best results were compared to the means White. Finally, the embryos were induced on MS medium supplemented with different concentrations of Picloram (0; 56.25; 112.5; 225.0; 450.0 mM) was observed after 120 days callus formation, they were performed Morphological characterization.

Keywords: calluses; induction; germination *in vitro*; germination; murmuru.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Pintura do século XVI apresenta a palmeira como um dos componentes presentes na tela----- 22
- FIGURA 2 – Palmeiras de *Astrocaryum ulei* (A), Inflorescência (B), Cacho de murmuru (C) e Frutos de murmuru (D)----- 25
- FIGURA 3 – Hidratante de óleo de murmuru (A), Máscara restauradora para cabelo (B), Linha de produtos Natura (C) e Cosmético feito com óleos de amêndoas do murmuru (D)----- 32
- FIGURA 4 – Forma do fruto do murmuru (A), Polpa do fruto do murmuru (B) e Detalhamento do fruto do murmuru (C)----- 36
- FIGURA 5 – Esquema demonstrativo do protocolo das etapas da embriogênese somática----- 51
- FIGURA 6 – Fragmento Florestal do Parque Zoobotânico, Rio Branco, Acre- 57
- FIGURA 7 – Diásporo (A), comprimento (B) e massa do diásporo (C)----- 59
- FIGURA 8 – Obtenção da amêndoa (A), comprimento da amêndoa (B), e detalhe do embrião zigótico (C)----- 59

- FIGURA 9 – Frequência Relativa do comprimento dos diásporos (A), diâmetro equatorial (B), diâmetro dos polos (C), diâmetro da espessura dos diásporos (D) e Massa dos diásporos (E)----- 66
- FIGURA 10 – Frequência Relativa do comprimento da amêndoa (A), diâmetro equatorial da amêndoa (B), diâmetro dos polos da amêndoa (C), massa da amêndoa (D), comprimento do embrião (E) e massa do embrião zigótico (F)----- 71
- FIGURA 11 – Morfogênese in vitro de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret. Aspecto do embrião zigótico (A), Dilatação da região distal e proximal (B), Emissão da raiz primária, curvatura do mesocótilo, emissão da bainha primária e início da formação do haustório (C), Desenvolvimento das bainhas foliares e detalhe do haustório e raiz primária com 63 dias de cultivo (D), em Rio Branco, Acre, 2014----- 79
- FIGURA 12 – Germinação e formação de plantas a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret em função do meio de cultura e período de cultivo (21, 35 e 63 dias). Meio MS (A, B e C), WPM (D, E e F) e White (G, H e I), em Rio Branco, Acre, 2014----- 81

- FIGURA 13 – Germinação de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret em função do meio de cultura, aos 63 dias de cultivo, Rio Branco, Acre, 2014----- 82
- FIGURA 14 – Porcentagem de germinação de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* em função do meio de cultura e concentração de sacarose, Rio Branco, Acre, 2014----- 83
- FIGURA 15 – Plantas de Murmuru (*Astrocaryum ulei* Burret) obtidas da germinação de embrião zigótico na fase de aclimatização, Rio Branco, Acre, 2014----- 88
- FIGURA 16 – Formação de calos a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* em meio MS adicionado de Picloram. 0 μ M, 56,25 μ M, 112,5 μ M, 225,0 μ M e 450,0 μ M, em Rio Branco, Acre, 2014----- 89
- FIGURA 17 – Indução de calos a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret em meio MS acrescido de Picloram. 0 μ M (A, B, C e D), 56,25 μ M (E, F, G e H), 112,5 μ M (I, J, K e L), 225,0 μ M (M, N, O e P) e 450,0 μ M (Q, R, S e T) aos 28, 42, 77 e 120 dias respectivamente, em Rio Branco, Acre, 2014----- 91

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Distribuição de espécies de <i>Astrocaryum</i> nos países: espécies endêmicas -----	26
TABELA 2 – Calendário com épocas de produção do murmuru (<i>Astrocaryum</i> spp.), Rio Branco – AC, 2003-----	30
TABELA 3 – Métodos utilizados para acelerar a germinação de sementes de palmeiras e período de viabilidade das sementes-----	38
TABELA 4 – Coodenadas geográficas das três árvores utilizadas no estudo de <i>Astrocaryum ulei</i> , Rio Branco, Acre, 2014-----	57
TABELA 5 – Descrição dos tratamentos utilizados no estudo de germinação de embriões zigóticos de <i>Astrocaryum ulei</i> , Rio Branco, Acre, 2014-----	61
TABELA 6 – Descrição dos tratamentos utilizados para de indução de calos para embriogênese somática a partir de embriões zigóticos de <i>Astrocaryum ulei</i> , Rio Branco, Acre, 2014-----	62
TABELA 7 - Parâmetros utilizados para análise dos caracteres de medição dos diásporos de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	64
TABELA 8 – Parâmetros utilizados para análise dos caracteres de medição das amêndoas de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	68
TABELA 9 – Caracterização do diásporo, amêndoa e embrião zigótico de cada matriz de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	73

TABELA 10 - Comparação de médias das características dos diásporos entre as matrizes de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	75
TABELA 11- Comparação de médias das características das amêndoas e embrião zigótico entre as matrizes de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	76
TABELA 12 – Influência do meio de cultura no comprimento da parte aérea (CPA), do haustório (THA) e da raiz primária (CRA), em cm, de plantas de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	85
TABELA 13 – Influência da sacarose no comprimento da parte aérea (CPA), do haustório (THA) e da radícula (CRA), em cm, de plantas de <i>Astrocaryum ulei</i> Burret, Rio Branco, Acre, 2014-----	86

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabela de a composição de concentrações finais dos meios de cultivo utilizados (MS, WPM e White) na germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de murmuru (<i>Astrocaryum ulei</i>)--	122
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

PZ – Parque Zoobotânico;

MS – Meio de cultura formulado por Murashige e Skoog;

WPM – Wood Plant Médium formulado por Lloyd e Mccown;

White – formulado por White;

CDD – Comprimento do diásporo;

DED – Diâmetro equatorial do diásporo;

DPD – Diâmetro dos pólos do diásporo;

EED – Espessura do endocarpo dos diásporos;

MDD – Massa dos diásporos;

CDA – Comprimento da amêndoa;

DEA – Diâmetro equatorial da amêndoa;

DPA – Diâmetro dos pólos da amêndoa;

CEZ – Comprimento do embrião zigótico;

MDA – Massa da amêndoa;

MEZ – Massa do embrião zigótico;

CPA – Comprimento da Parte Aérea;

THA – Tamanho do Haustório;

CRA – Comprimento da Radícula.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO -----	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	20
2.1	Descrição da Espécie -----	20
2.1.1	Abordagem histórica -----	20
2.1.2	Classificação e descrição botânica-----	22
2.1.3	Origem e variedade-----	25
2.1.4	Área de Ocorrência e exigências edafoclimáticas -----	26
2.1.5	Informações Ecológicas -----	28
-		28
2.1.6	Importância Econômica -----	28
2.1.7	Utilizações: Beneficiamento, produtos e subprodutos-----	30
2.2	Caracteres de medição dos Cachos, Frutos e Sementes -----	32
2.2.1	Relações dos caracteres de medições de frutos e sementes de Palmeiras-----	34
-		34
2.2.2	Relações dos caracteres de medição de frutos e sementes de murmuru-----	35
2.3	Métodos de propagação -----	36
2.3.1	Propagação Sexuada -----	36
2.3.2	Propagação assexuada -----	39
2.3.2.1	Micropropagação-----	39
2.3.2.2	Germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos -----	42
2.3.2.3	Meios de Cultura -----	43
2.3.2.4	Reguladores de Crescimento-----	46
2.3.2.5	Embriogênese Somática -----	47
2.3.2.5.1	Etapas da Embriogênese Somática-----	50
2.3.2.5.1.1	Indução da embriogênese somática-----	51
2.3.2.5.1.2	Multiplicação de culturas embriogênicas-----	53
2.3.2.5.1.3	Maturação dos embriões somáticos-----	53
2.3.2.5.1.4	Germinação dos embriões somáticos-----	55
3	MATERIAL E MÉTODOS -----	56

3.1 Área de localização do experimento, plantas matrizes e coleta dos frutos -----	56
3.2 Caracterização dos diásporos de murmuru -----	58
3.3 Germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de murmuru -----	60
3.4 Indução de calos para embriogênese somática de murmuru -----	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	62
4.1 Caracterização dos diásporos, amêndoas e embrião zigótico de murmuru -----	63
4.1.1 Caracterização dos diásporos e amêndoas de murmuru -----	63
4.1.2 Caracterização dos diásporos, amêndoas e embrião zigótico de cada matriz -----	71
4.2 Germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de murmuru -----	76
4.3 Indução de calos para Embriogênese Somática -----	88
5 CONCLUSÕES -----	95
REFERÊNCIAS -----	96
APÊNDICES -----	122

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia é um bioma com enorme diversidade biológica. Mantém-se em evidência mundial devido à extensiva riqueza dos recursos naturais, pois os produtos originados das florestas apresentam um elevado valor econômico, principalmente na atualidade, quando o mundo tem consciência da preservação do meio ambiente aliada a exploração racional da natureza.

Os produtos florestais não-madeireiros da Amazônia são atualmente revalorizados e sua utilização é incrementada em virtude da valorização de uma vida de hábitos mais saudáveis e, conseqüentemente, pelo consumo de produtos naturais (SOUSA et al., 2004).

Nas florestas neotropicais do mundo existe uma considerável biodiversidade de palmeiras, assim contribuem para a manutenção dos ecossistemas, bem como para a biodiversidade.

Dentre as espécies com grande potencial econômico, destaca-se as espécies de palmeira do gênero *Astrocaryum* (Arecaceae) incluindo espécies endêmicas de importância socioeconômica na Amazônia Sul-Occidental. A palmeira de mururu (*Astrocaryum* spp.), bastante encontrada na região amazônica é importante para o uso múltiplo, pois resulta em benefícios energéticos e alimentares para o homem, sem ocasionar riscos à espécie e ao meio ambiente.

As características de medições das sementes são importantes em relação a propagação de espécies, principalmente de palmeiras, em razão de promover o aumento da produtividade. Desta forma, os parâmetros dos caracteres das medições de frutos servem de base de informações para outras áreas de conhecimento, pouco investigados nas linhas de pesquisas voltadas as formas de propagação de palmeiras.

Na maioria das palmeiras, o processo de propagação ocorre de forma restrita, quase sempre por sementes, assim, algumas limitações neste tipo de processo de multiplicação são encontradas comparados com outras técnicas de propagação vegetativa que busque a domesticação e exploração racional.

Embora incipientes, as utilizações de técnicas biotecnológicas demonstram resultados promissores, principalmente na aplicação de métodos

biotecnológicos de culturas de células e tecidos vegetais, principalmente com a aplicação de cultivo *in vitro* em palmeiras neotropicais de forma mais frequente e ainda complementa pesquisas voltadas a embriogênese somática, bastante utilizados com sucesso na conservação e uso de palmeiras de importância socioeconômica.

As técnicas de cultura de tecidos vegetais possibilitam, através de um conjunto de estratégias, a propagação massal e conservação das espécies (REICH FILHO et al., 2005). Todavia, o desenvolvimento destas técnicas é fundamental para as áreas de morfogenética e de melhoramento genético, diante desta importância, exigem o estabelecimento de protocolos eficientes de técnicas de cultivo *in vitro* em *Astrocaryum ulei*.

Este trabalho teve por objetivo determinar as principais características de medições dos diásporos e amêndoas, e ainda avaliar a morfogênese *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru em função do meio de cultura e concentrações de carboidratos e a indução de calos para embriogênese somática de *Astrocaryum ulei*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segue a revisão de literatura considerando aspectos importantes e o restrito conhecimento científico sobre a espécie *Astrocaryum ulei* Barret., direcionado a tópicos de estudos de caracterização de medições de frutos, germinação e embriogênese somática.

2.1 Descrição da Espécie

A seguir são apresentados aspectos relevantes, referentes à descrição do murmuru, como: abordagem histórica, classificação e descrição botânica, origem e variedades de murmuru, área de ocorrência e exigências edafoclimáticas, utilizações do murmuru e importância econômica.

2.1.1 Abordagem histórica

Nas últimas décadas, em razão das mudanças de hábitos mais saudáveis das populações, os produtos florestais não-madeireiros da Amazônia estão mais valorizados em consequência do maior consumo dos produtos naturais (PEREIRA et al., 2006).

Entre muitas espécies que produzem inúmeros produtos florestais não-madeireiros, as palmeiras são de grande importância para o homem, pois são grandes fornecedoras de produtos, pertencentes a família Arecaceae, antigamente denominadas de Palmae.

Sodré (2005) cita que no que concerne a evolução histórica das palmeiras, desde os tempos remotos às grandes civilizações orientais, as espécies de palmeiras estão presentes como elementos característicos das paisagens e habitats. Os primeiros registros relatados na história iniciaram-se entre os povos assírios e egípcios, informações que são base de alimentação para os habitantes

do norte da África e sudoeste da Ásia, e ainda estende-se para o Eufrates até o Nilo.

Os gregos chamavam as espécies de palmeiras de “fóinix”, etimologicamente de origem fenícia. A partir da difusão do seu cultivo, expedições botânicas foram realizadas em virtude do conhecimento de novas plantas, estende-se à América e Oceania e foi introduzida na Europa (SODRÉ, 2005).

Em relação às espécies de *Astrocaryum*, somente em 1980 surgiram as primeiras informações sobre a identificação da maioria das espécies. As informações das coleções deste período são incipientes, devido que durante a II Guerra Mundial, vários herbários foram destruídos e assim ocorreu a perda de inúmeros espécimes.

No entanto, várias contribuições foram realizadas por Martius (1824 - 1844), Drude (1881) e Barbosa Rodrigues (1903), pelas excelentes descrições e ilustrações de trabalhos de pesquisas que envolvem a palmeira de murmuru. Posteriormente Burret (1934) descreveu espécies novas de *Astrocaryum*, ainda Granville (1989) descreveu e discutiu a distribuição das espécies em países da América do Sul, especialmente na Guiana Francesa (KAHN, 2008). Nos registros de estudos na Colômbia, Brasil e Peru, foram inventariadas algumas espécies de murmuru, outras foram reavaliadas.

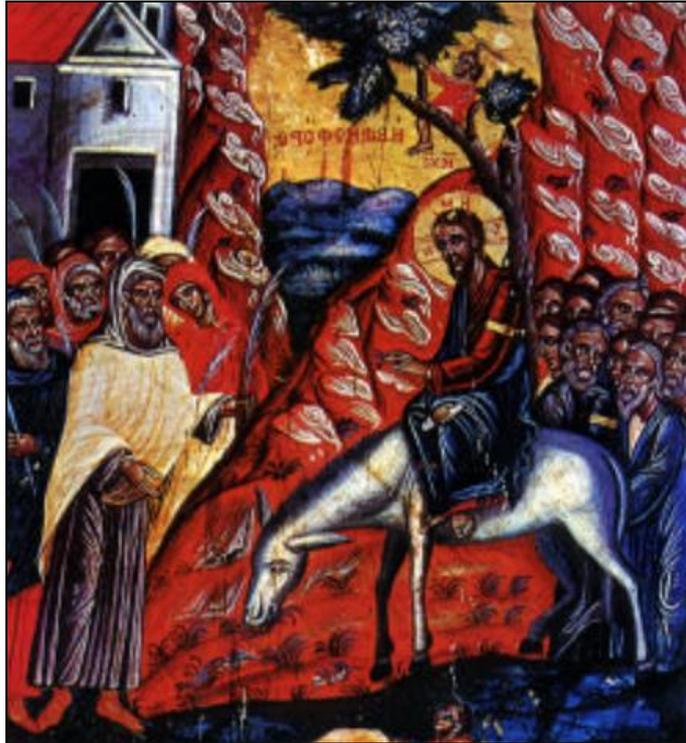


Figura 1: Pintura do século XVI apresenta a palmeira como um dos componentes presentes na tela.

Fonte: Sodré (2005).

2.1.2 Classificação e descrição botânica

As palmeiras foram classificadas de acordo com Alves e Demattê (1987) como plantas do Reino Vegetal; divisão magnoliophyta (Angiospermae); classe Liliopsida (Monocotyledoneae); subclasse Arecidae (Espadiciflorae); Super-ordem Arecanae; ordem Arecales (Principes) e família Arecaceae (Palmae).

A família Arecaceae apresenta uma distribuição ampla no mundo, inclui cerca de 200 gêneros e 2000 espécies (SILVA et al., 2013). No continente americano, são encontrados 67 gêneros e cerca de 1440 espécies, dos quais 39 gêneros e aproximadamente cerca de 200 espécies foram registradas no Brasil (HENDERSON et al., 1995).

As espécies do gênero *Astrocaryum* são economicamente importantes, o gênero é composto de 40 espécies e entre as espécies inseridas neste grupo,

encontra-se a conhecida pelo nome vulgar de murmuru ou murumuru no Brasil e chonta-loro na Bolívia (KAHN, 2008).

Os murmurus são palmeiras de fácil reconhecimento, apresentam como características botânicas um estipe solitário ou cespitoso, crescimento em touceiras com estipe de 10 a 15 metros de altura, geralmente medindo de 17 a 27 cm de diâmetro, portando um monocaule (MIRANDA et al., 2001).

Os murmurus destacam-se por ser cobertas em toda a extensão do caule bainhas persistentes e densamente cobertas por espinhos alongados, pretos e achatados (NASCIMENTO et al., 2007).

As folhas desta palmeira são pinadas, variam em média de 12 a 20, geralmente apresentam coloração quase branca abaxialmente e estão regularmente arranjadas e dispostas em um mesmo plano, elas medem em média cerca de 5,0 a 6,2 metros (MIRANDA et al., 2001; NASCIMENTO et al., 2007).

A inflorescência é determinada de forma interfoliar, ereta na antese e na frutificação, com frutos turbinados assimétricos, com coloração avermelhada, de forma periforme a ovóide (NASCIMENTO et al., 2007; BEZERRA, 2012). O pistilo da flor é glabro, em forma de uma taça, superficialmente tridentados, fazendo com que seja mais curto do que a corola, raramente desigual, nunca o cobre (KAHN, 2008).

Os frutos do murmuru são bastante apreciados pelo homem, morfológicamente apresentam características bem distintas em relação ao tamanho, formato e coloração. Os frutos têm uma variação de 3,0 a 8,5 cm, alcançam de 1,2 cm a 4,5 cm de diâmetro e o peso médio de 8,0 gramas, com formato periforme a obovado ou alongado-obovado e coloração marrom-claro a amarelo-ouro, com presença ou não de espinhos (BEZERRA, 2012; NASCIMENTO et al., 2007; SOUSA et al., 2004).

Os frutos do murmuru são morfológicamente formados quando maduros por um epicarpo geralmente coberto por pequenos espinhos finos, negros e macios. O mesocarpo é comestível, parte carnosa, suculenta e também macia, importante na dieta de vários animais, principalmente de mamíferos (macacos, esquilos, caititus e queixadas). Já o endocarpo é lenhoso, contém endosperma homogêneo de coloração branca (NASCIMENTO et al., 2007), conforme ilustra a Figura 2.

A composição química deste fruto é composta em média de 53% de polpa, faz com que seja considerado suculento (PEREIRA et al., 2006). Além disso, para Pio Corrêa citado por Silva (1996), os cheiros destes frutos são bastante característicos, pois o aroma e o sabor são semelhantes aos do melão. A polpa do murmuru é classificada como adocicada, em razão de que os teores de sacarose apresentam valores consideráveis em torno de 8,7°Brix, o teor bruto de proteína em torno de 4%, julgado como baixa fonte e ainda pH do fruto varia em torno de 4,31 a 4,26, classificado como ácido (PEREIRA et al., 2006). As amêndoas do murmuru são oleosas e também comestíveis, fonte de matéria prima para várias utilidades (BEZERRA, 2012).

A floração e frutificação de *Astrocaryum* spp. ocorrem anualmente, porém de forma desuniforme. A floração ocorreu durante a estação seca e a frutificação ocorre durante a estação chuvosa, geralmente os processos que influenciam a floração e frutificação estão relacionados aos correspondentes agentes polinizadores e dispersores (FREITAS et al., 2011).

As alterações das formas rítmicas e condições sazonais são fatores como já mencionados anteriormente de grande importância no processo fenológico de reprodução e interfere na participação dos agentes polinizadores e dispersores (JANZEN, 1967).

As formas de dispersão dos frutos de murmuru são através da hidrocórica, feita pela água dos rios, e zoocórica, realizada pela fauna aquática e terrestre, principalmente por mamíferos como as pacas, jabutis, quatiurus, macacos, queixadas e outros (MIRANDA et al., 2001).

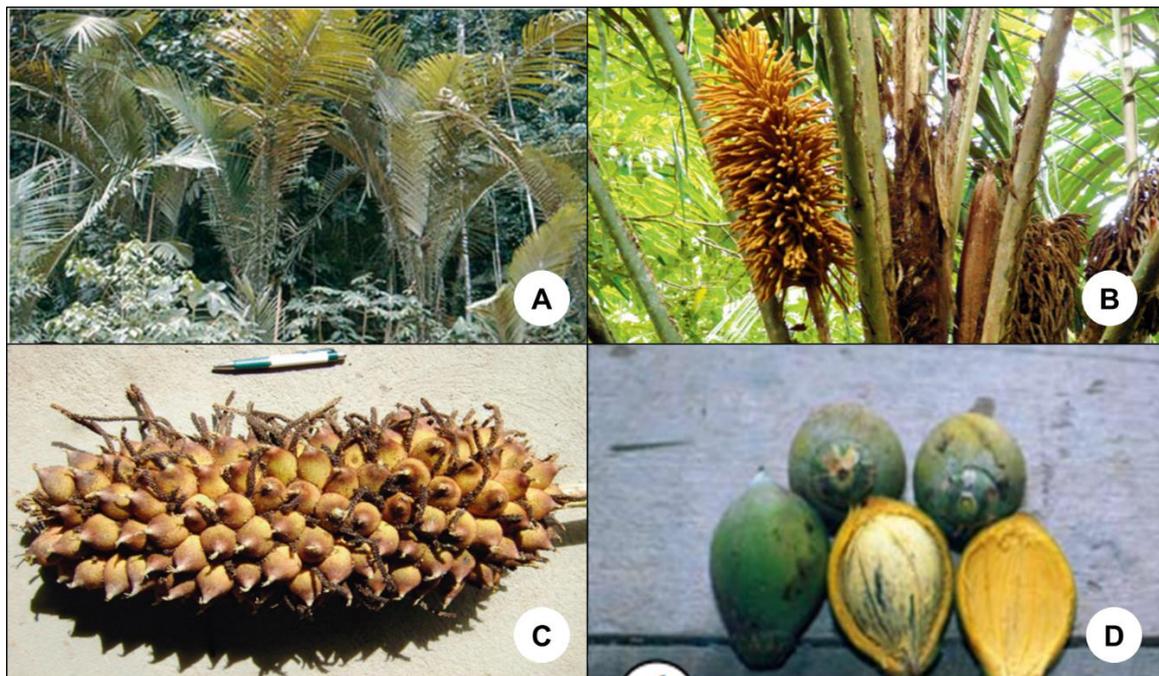


Figura 2: Palmeiras de *Astrocaryum ulei* (A), Inflorescência (B), Cacho de mururu (C) e Frutos de mururu (D).

Fonte: Kahn (2008); Bezerra (2012).

2.1.3 Origem e Variedades

O mururu é uma espécie do gênero *Astrocaryum*, que apresenta uma grande importância econômica. É uma palmeira bastante encontrada na região amazônica. As populações de mururu geralmente estão situadas em regiões de elevadas umidade e temporariamente inundadas, encontradas em áreas do estuário do Rio Amazonas e afluentes, assim como no alto e baixo Amazonas. Na região amazônica estão distribuídas as espécies *Astrocaryum murumuru* e a *Astrocaryum ulei* (ALTMAN, 1958; SILVA, 1996; BALICK, 1979).

São observados no Acre duas espécies de mururu com características botânicas semelhantes: *Astrocaryum faranae*, com distribuição somente no Vale do Juruá e *Astrocaryum ulei*, encontrada em todo o Estado do Acre, espécies estas formadas em toda sua estrutura por espinhos (SOUSA et al., 2004).

Kahn (2008) relata em suas buscas que ainda são descritas na Amazônia três espécies de mururu: *Astrocaryum chonta*, encontradas a partir de Santa Cruz de la Sierra, na Bolívia ao vale do Rio Ucayali, no Peru. A *Astrocaryum ulei*,

encontrada no norte da Bolívia junto à margem sul do Rio Solimões, no Brasil (Acre, Amazonas e Rondônia). E ainda, a *Astrocaryum murumuru*, encontrada nas Guianas e na região nordeste e central da bacia.

2.1.4 Área de Ocorrência e Exigências Edafoclimáticas

O gênero *Astrocaryum* é composto por cerca de 40 espécies, distribuídas em 12 países conforme Tabela 1. O gênero é concentrado de forma representativa em países como Brasil, Peru, Colômbia e nas Guianas, com 26, 14, 11 e 10 espécies, respectivamente. No entanto, no Brasil consta como endêmicas oito espécies, duas vezes a mais do que na Colômbia e Peru, onde constam quatro espécies em cada país (KAHN, 2008).

TABELA 1 – Distribuição de espécies de *Astrocaryum* nos países: espécies endêmicas.

PAISES	QUANTIDADE	ESPÉCIE
Bolívia	8	<i>Astrocaryum aculeatum</i> , <i>A. campestre</i> , <i>A. chonta</i> , <i>A. gratum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. huaimi</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. ulei</i> .
Brasil	26	<i>Astrocaryum acaule</i> , <i>A. aculeatum</i> , <i>A. aculeatissimum</i> ^(e) , <i>A. arenarium</i> ^(e) , <i>A. campestre</i> , <i>A. chambira</i> , <i>A. echinatum</i> ^(e) , <i>A. faranae</i> , <i>A. farinosum</i> , <i>A. ferrugineum</i> , <i>A. giganteum</i> ^(e) , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. huaimi</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. javarense</i> , <i>A. kewense</i> ^(e) , <i>A. minus</i> , <i>A. murumuru</i> , <i>A. paramaca</i> , <i>A. pygmaeum</i> ^(e) , <i>A. rodriguesii</i> , <i>A. sociale</i> ^(e) , <i>A. sciophilum</i> , <i>A. ulei</i> , <i>A. vulgare</i> , <i>A. weddellii</i> ^(e) .
Colômbia	11	<i>Astrocaryum acaule</i> , <i>A. ciliatum</i> ^(e) , <i>A. chambira</i> , <i>A. cuatrecasanum</i> ^(e) , <i>A. ferrugineum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. malybo</i> ^(e) , <i>A. macrocalyx</i> , <i>A. standleyanum</i> , <i>A. triandrum</i> ^(e) , <i>A. urostachys</i> .
Costa Rica	2	<i>Astrocaryum confertum</i> , <i>A. standleyanum</i> .
Equador	4	<i>Astrocaryum chambira</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. standleyanum</i> , <i>A. urostachys</i> .
Guiana Francesa	8	<i>Astrocaryum gynacanthum</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. minus</i> , <i>A. murumuru</i> , <i>A. paramaca</i> , <i>A. rodriguesii</i> , <i>A. sciophilum</i> , <i>A. vulgare</i> .

Guiana	9	<i>Astrocaryum aculeatum</i> , <i>A. farinosum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. murumuru</i> , <i>A. paramaca</i> , <i>A. rodriguesii</i> , <i>A. sciophilum</i> , <i>A. vulgare</i> .
Suriname	9	<i>Astrocaryum aculeatum</i> , <i>A. farinosum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. murumuru</i> , <i>A. paramaca</i> , <i>A. rodriguesii</i> , <i>A. sciophilum</i> , <i>A. vulgare</i> .
Panamá	2	<i>Astrocaryum confertum</i> , <i>A. standleyanum</i> .
Peru	14	<i>Astrocaryum carnosum</i> ^(e) , <i>A. chambira</i> , <i>A. chonta</i> , <i>A. faranae</i> , <i>A. gratum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. huaimi</i> , <i>A. huicungo</i> ^(e) , <i>A. jauari</i> , <i>A. javarense</i> , <i>A. macrocalyx</i> , <i>A. perangustatum</i> ^(e) , <i>A. scopatum</i> ^(e) , <i>A. urostachys</i> .
Trindade	1	<i>Astrocaryum aculeatum</i> .
Venezuela	6	<i>Astrocaryum acaule</i> , <i>A. aculeatum</i> , <i>A. chambira</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>A. jauari</i> , <i>A. murumuru</i> .

(e): espécies endêmicas

Fonte: Adaptado de Kahn (2008).

Henderson et al., (1995) menciona que muitas espécies do gênero *Astrocaryum* encontram-se distribuídas em todos os estados amazônicos, e ainda relata, que essas espécies geralmente estão associadas a áreas periodicamente inundadas, baixas elevações e formações florestais densas ou semi-abertas.

A palmeira do murumuruzeiro é encontrada principalmente na região amazônica, concentradas no estuário do Rio Amazonas (SILVA, 1996) e afluentes, assim como no alto e baixo Amazonas (ALTMAN, 1958; SILVA, 1996; BALICK, 1979).

O *Astrocaryum murumuru* Mart. está distribuída em grande abundância na várzea estuarina, percorre ao longo dos rios de todos os estados amazônicos (HENDERSON et al., 1995). Situam-se também no nordeste e região central da bacia amazônica e sudoeste do estado do Acre, além de países como Guianas, Guiana Francesa e Suriname (KAHN, 2008).

O *Astrocaryum ulei* Burret é uma palmeira oriunda de áreas de florestas primárias, secundárias e ainda pastagens, com exigências edafoclimáticas de boa adaptação, pois é uma espécie que se desenvolve em regiões de terra firme e

áreas alagadas. Encontra-se distribuída na região sul da Amazônia em estados como Acre, Amazonas e Rondônia e ainda em Pando na Bolívia e Madre Dios no Peru (FERREIRA, 2005).

2.1.5 Informações Ecológicas

Planta perinifólia, heliófita, característica das florestas de várzea de terra firme da Amazônia (LORENZI, 2001). Os aspectos ecológicos do *Astrocaryum ulei* Burret, descreve que é uma espécie com adaptação em regiões de florestas sazonais, de terras aluviais inundáveis e pântanos costeiros sob influência das marés (KAHN, 2008).

O murmurzeiro é considerado entre as espécies de maior ocorrência nas florestas de várzea amazônica com cerca de 15% das espécies comuns nesta região, registros estes obtidos por Almeida et al., (2004). A densidade de ocorrência da espécie é de 516 a 1396 plantas/ha (GAMA et al., 2002).

Existe uma grande variação de dados referentes à densidade do murmurzeiro. Os dados indicadores do estado do Acre apresentam em média em algumas regiões de 10 a 28 plantas/ha, porém em algumas áreas já foram registrados com mais de 100 plantas/ha (BEZERRA et al., 2012). Diante desta grande ocorrência, o murmuru tem uma importante função ecológica para a fauna frugívora e para as populações ribeirinhas (FREITAS et al., 2011).

2.1.6 Importância Econômica

A prospecção de alternativas potenciais dos produtos não-madeireiros são significativas para o mercado atual. O murmuru é uma espécie com grande potencial econômico, traduzida pelo uso múltiplo de produtos extraídos dos recursos desta palmeira, gera benefícios energéticos e alimentares para o homem e ainda possibilita a exploração sustentável, sem promover riscos à espécie e ao meio ambiente.

No entanto, há poucas informações sobre o mercado de produtos derivados do murmuru no âmbito nacional e internacional, apenas estimativas superficiais que sinalizam dados que esta espécie tem grande potencial para o futuro.

As informações do mercado internacional são incipientes, apenas há registros de crescimento de exportação da gordura de murmuru para alguns países da Europa. Algumas empresas optam por investir na exportação, com o intuito atingir o mercado internacional como Europa e EUA, em razão da dificuldade que o mercado local tem em não valorizar os produtos oriundos da indústria de cosméticos (GALDINO, 2007).

As informações referentes ao mercado nacional apontam que existe uma expansão no mercado nas indústrias alimentícias e de cosméticos, apesar de não haver uma hegemonia na produção industrial em larga escala em todas as regiões do Brasil, apenas a concentração de mercado na região Norte do país, com uma produção de cerca de 25 mil toneladas ao ano (SOUSA et al., 2004).

As indústrias nacionais concentram-se os seus investimentos na área de processamento de gorduras das amêndoas de murmuru e participam os estados que são os principais centros de produção, como o Acre, Amazonas e Pará, porém o mercado nacional tem enfrentado algumas dificuldades relacionadas à cadeia produtiva desta comercialização, principalmente aos altos custos que as logísticas de transporte têm exigido na região amazônica (GALDINO, 2007).

As empresas ou cooperativas do estado do Acre que comercializam as matérias-primas oriundas do murmuru para o mercado brasileiro apresentam preços do murmuru que variam de R\$14,00 a R\$20,00 por quilo, garantem rendimentos em torno de 30% a cada 100 kg de sementes e obtem ganhos de cerca de R\$600,00, incentivos estes que contribuem de forma significativa para a economia das populações extrativistas (GALDINO, 2007).

2.1.7 Utilizações: beneficiamento, produtos e subprodutos

O *Astrocaryum ulei* Burret. tem grande importância para a economia local, devido que o murmuru é uma espécie fonte múltipla de produtos e tem como matérias primas o coco verde (consumido na alimentação), coco seco (artesanatos), espinhos (medicamentos para a queda de cabelos), folha (alimentação de animais), amêndoas (manteiga) e óleos/gorduras (cosméticos) (GALDINO, 2007).

As fibras localizadas no pecíolo e ráquis do murmuru são recursos que em transformação são fontes de matéria prima das indústrias de papéis (ROCHA; POTIGUARA, 2007). O murmuru é material de vários produtos e subprodutos como adubos, artesanato, fibras, forragens, madeira comercial, palha de cobertura, bastante utilizadas também como plantas ornamentais e de sombra (FRANKE, 1999).

As amêndoas são aproveitadas no processamento industrial na fabricação de margarinas, devido possuírem uma elevada concentração de óleos (SILVA, 1996). A gordura é utilizada na indústria de cosméticos, principalmente na fabricação de sabonetes, cremes, xampus e nas indústrias de tintas como secativos (SOUSA et al., 2004).

O beneficiamento dos frutos do murmuru inicia-se na observação das épocas de produção da espécie, que geralmente estão disponíveis duas vezes ao ano, conforme foi demonstrado por Sousa et al., (2004) na Tabela 2.

TABELA 2 – Calendário com épocas de produção do murmuru (*Astrocaryum* spp.), Rio Branco – AC, 2003.

<i>Astrocaryum</i> spp.	Meses											
	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
Floração	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
Frutos Verdes	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X
Frutos Maduros	X	X	X	X	X	-	-	-	X	X	X	X

Fonte: Adaptado de Sousa et al., (2004).

Uma das fases de beneficiamento dos frutos de murmuru é a realização da coleta dos frutos, onde se opta preferencialmente por realizar a coleta quando os frutos estiverem disponíveis no chão, devido que existe a dificuldade de serem coletados diretamente do cacho, pois as palmeiras de murmuru são cobertas em sua extensão por vários espinhos. Geralmente se deve observar as épocas de coleta destes frutos, pois os frutos dispostos no chão por muito tempo estão sujeitos a serem atacados por pragas e fungos, recomendação esta bastante importante como medidas de profilaxia em relação a sanidade dos frutos e amêndoas (SOUSA et al., 2004).

Um dos procedimentos necessários após a coleta é o processo de pré-beneficiamento, quando ocorre a retirada da polpa por meio de uma lavagem, em que os frutos ficam submedidos em água corrente para facilitar a remoção manual da polpa. Em seguida os frutos são friccionados em uma peneira, removendo parte da polpa. Quando as sementes ficam expostas em temperatura ambiente para perder a umidade, são armazenados em câmaras frias para não haver a perda da viabilidade das sementes. A partir deste momento inicia-se a utilização de tecnologias de transformação para o processamento extrativista das amêndoas com o intuito de obtenção de vários tipos produtos e subprodutos utilizados nos variados segmentos (PALLET, 2002).



Figura 3: Hidratante de óleo de murumuru (A), Máscara restauradora para cabelo (B), Linha de produtos Natura (C) e Cosmético feito com óleos de amêndoas do murumuru (D).

Fonte: Bustamante et al., (2010); Galdino (2007).

2.2 Caracteres de medição dos Cachos, Frutos e Sementes

As características de medição dos cachos, frutos e sementes de plantas são essenciais para a determinação de definições particulares de uma espécie, desta forma, essas características servem de subsídios para outras áreas de conhecimento, fornecendo informações referentes à variabilidade genética entre

as espécies, aspectos ecológicos de dispersão, agentes dispersores e estabelecimento de plântulas (MACEDO et al., 2009).

Os dados de estudos referentes as características métricas de cachos, frutos e sementes são pouco aplicadas nos setores comerciais, em razão da escassez de pesquisas que envolvem o assunto, necessidade de uma investigação mais detalhada sobre o assunto. Diante disso, as características de medições é uma ferramenta que tem uma grande contribuição no que concerne a respeito da propagação de espécies e conseqüentemente promove o aumento da produtividade de sementes (CRUZ et al., 2001).

Os processos descritivos nos caracteres de medição de frutos e sementes são base de dados que esclarecem a diferenciação de espécies no mesmo gênero e ainda agrega melhorias nas novas ações tecnológicas de produção de mudas, principalmente de espécies nativas (CRUZ et al., 2001; PIÑA-RODRIGUES, 2002). Destaca-se ainda que os caracteres de medição de frutos e sementes gerem subsídios para padronizações de testes laboratoriais, pois estes estudos servem de base de dados e favorecem o uso racional e sustentável dos recursos quando tratamos de conservação e utilização das espécies (FERRONATO et al., 2000).

A descrição do tamanho e forma dos frutos são caracteres comuns nos estudos de caracterização de medição das espécies brasileiras, permite a diferenciação de espécies do mesmo gênero, obtidos através das análises dos padrões morfométricos encontrados ao longo da distribuição geográfica da espécie (ARAÚJO, 2009).

Desta forma, complementa-se que a obtenção dos dados referentes ao peso dos frutos é avaliada de forma positiva, pois estas informações são preponderantes para a determinação da quantidade de polpa e conseqüentemente uma maior valorização das espécies avaliadas para os setores industriais que utilizam os extratos da polpa (MOURA et al., 2010).

As sementes apresentam algumas particularidades que a colocam como órgão vegetativo fundamental para os processos de identificação de espécies por meio de suas características morfológicas e auxilia a compreensão das pesquisas voltadas aos estudos de germinação de sementes (DONADIO; DEMATTÊ, 2000).

Segundo Araújo (2009), os estudos dos caracteres de medições de sementes visam ampliar os caracteres descritivos das espécies, onde se observa

as variações individuais durante o desenvolvimento das sementes e da variabilidade genética, além da relação das características de dispersão e do estabelecimento das plântulas e a diferenciação das espécies pioneiras e não pioneiras em florestas tropicais.

As avaliações para a determinação do peso ou tamanho das sementes é um procedimento estratégico adotado para melhor compreensão dos processos germinativos, com o intuito de uniformizar a emergência e o crescimento inicial das plântulas, assim gera o aumento da produtividade e vigor das mudas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

2.2.1 Relações dos caracteres de medições de frutos e sementes de Palmeiras

Na Amazônia existe uma grande biodiversidade de palmeiras, onde estas desempenham papéis socioeconômicos e ambientais relevantes à sociedade. Desse modo, fica evidenciado que existe uma necessidade do aprimoramento de técnicas que facilitem a propagação das espécies de palmeiras em larga escala (SANTOS-MOURA, 2013).

A determinação das diferenças dos caracteres de medição dos cachos, frutos e sementes de palmeiras é um caminho de suma importância para o conhecimento pormenorizado, pois a caracterização de medição está ligada a forma de dispersão e reprodução das espécies (DOMINGOS NETO; FERREIRA, 2014).

Matheus e Lopes (2007) mencionaram em seus estudos que as pesquisas que envolvem os caracteres de medição de sementes de palmeiras auxiliam nos processos germinativos e caracterização do vigor e da viabilidade. Quando se trata de palmeiras, estes estudos merecem destaque, pois esta corrente de estudos massifica cientificamente a colaboração da caracterização de medição de frutos e sementes para as pesquisas voltadas a propagação sexuada das espécies (ARAÚJO et al., 2000).

Os trabalhos de caracterização de frutos e sementes de espécies nativas são raros e, quase sempre, têm se limitado às espécies de maior expressão

econômica, porém pesquisas são observadas em algumas espécies, onde constam alguns dados caracterização de medição de palmeiras, como os obtidos de Barbosa et al., (2010), com buritis (*Mauritia flexuosa* L. F.), babaçu (*Attalea speciosa* Mart. Ex Spreng.) (MITJA et al., 2008; PINHEIRO et al, 2014), jarina (*Phytlephas mcrocarpa*) (NETO DOMINGOS, 2014), macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd) (SANTOS et al., 2013) e tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.), (RIBEIRO et al., 2014).

2.2.2 Relações dos caracteres de medição de frutos e sementes de murumuru

Trabalhos como o de Carim et al., (2009) demonstram a importância dos caracteres de medição na diferenciação dos indivíduos da espécie de *Astrocaryum murumuru* L.). Estes estudos corroboram para as linhas de pesquisas que afirmam que a caracterização reprodutiva da espécie é um processo obtido a partir da observação dos caracteres morfológicos dos frutos e sementes.

Os autores dos estudos dos caracteres de medição de *Astrocaryum murumuru* L., localizada na floresta de várzea no município de Mazagão – Amapá, verificaram que os cachos eram formados por cerca de 150 frutos, onde na análise individual dos frutos obtiveram peso médio de 12390 gramas, que variam entre 2350 e 31400 gramas, também encontrado um número médio de 375,6 frutos por cacho, que variam entre 106 e 960. Os frutos apresentaram peso médio de 23,18 gramas, diâmetro longitudinal e diâmetro vertical de 54,20 e 30,03 cm, respectivamente e peso médio do mesocarpo de 10,34 gramas, principalmente por esta palmeira possuir ótima perspectiva em relação à produção de biodiesel (CARIM et al., 2009).

Nascimento et al., (2007) estudaram os caracteres de medição de cachos, frutos e sementes da palmeira murumuru (*Astrocaryum ulei* Burret) proveniente da região de Porto Acre – Acre, onde os autores obtiveram peso médio dos cachos de 8,2 quilos, comprimento de 79,3 cm, diâmetro de 22,2 cm e média de 552 frutos por cacho. Os frutos possuem peso médio de 12.98 g, peso da casca de

2,21 gramas, da polpa de 0.91 gramas, endocarpo 4,65 gramas e endosperma de 3,22 gramas.

Desta maneira, os caracteres de medição dos frutos e sementes é de grande importância, pois os dados dos caracteres de medição são fontes de subsídios complementares para os estudos de variabilidade genética.



Figura 4 Forma do fruto do mururu (A), Polpa do fruto do mururu (B) e Detalhamento do fruto do mururu (C).

Fonte: Bezerra (2012).

2.3 Métodos de propagação

A multiplicação é um processo determinante para o aumento de número de indivíduos de uma mesma espécie, simultaneamente adquirido a partir das características desejáveis, pois ocorre por via sexuada ou assexuada. Assim, a variedade e morfologia de cada espécie é fator determinante para a escolha do melhor método de propagação que será empregado.

2.3.1 Propagação sexuada

A reprodução sexuada é o principal mecanismo de multiplicação das plantas superiores e de praticamente de todas as angiospermas. Os métodos de reprodução sexuada normalmente utilizados em plantas são: gametogênese, microsporogênese, macrosporogênese e através da polinização e fertilização (DANTAS et al., 2009).

A propagação sexuada é realizada normalmente através de sementes, pois procede da recombinação genética entre as plantas e ocasiona a variação genética para os descendentes (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009). Para gerar o aumento da variabilidade nas progênes resultantes, a propagação via sementes é o mecanismo mais eficiente e utilizado em espécies de cereais, olerícolas e florestais (GÓES, 2011).

As palmeiras são multiplicadas quase que exclusivamente por sementes, em que a obtenção das plantas seja de forma geneticamente desuniforme, em razão da segregação e recombinação de genes que ocorrem durante a reprodução sexual (SUMIANAH et al., 1984), além disso, apresentam processos germinativos lentos, de forma desuniforme e frequência baixa, fatores estes influenciados pelo estágio de maturação, presença de pericarpo, tempo de colheita e semeadura, dormência física, temperatura do ambiente e substrato, o que torna a produção de mudas um grande desafio (MEEROW, 1991).

Grande parte das espécies de palmeiras são isentas de mecanismos naturais de propagação vegetativa, de modo que a multiplicação ocorra através de sementes. Também as palmeiras apresentam vários níveis de dormência, característica esta que dificultam a propagação convencional das espécies (BRAUN, 1968).

As sementes de palmeiras apresentam uma variação de dormência entre as diferentes espécies. Pode-se encontrar em algumas delas mecanismos com grande potencial de dormência e ocorrer à germinação em longos períodos. Assim também como ocorrer de forma rápida, sem a necessidade da intervenção de procedimentos para maior obtenção de mudas. De uma maneira geral, o tempo médio de germinação de sementes de palmeiras, avaliadas em condições naturais, é superior a um ano (COSTA; MARCHI, 2008).

Muitas espécies de palmeiras apresentam dificuldades de germinação, mesmo quando as condições são favoráveis. Uma das dificuldades é em relação à parte embrionária, pois o embrião muitas vezes encontra-se subdesenvolvido logo após as sementes se desprenderem da planta mãe e necessário que estas sementes sejam submetidas a altas temperaturas para que se dê início ao processo germinativo (LUZ, 2008).

Koebernik (1971) relata em seus estudos o tempo médio de germinação de mais de 200 espécies de palmeiras, onde ele registrou que 54% das espécies de

palmeiras germinaram após mais de 100 dias e 19% necessitaram de mais de 200 dias.

As informações referentes à germinação de murumuru são escassas. Porém são notados na literatura alguns estudos sobre esta espécie. De acordo com Santos e Ferreira (2014), a germinação de sementes de *Astrocaryum murumuru* é bastante variável, depende da matriz, ou progênie utilizada, porém de maneira distinta, boa parte das sementes não germinadas havia apodrecido, enquanto os restantes se mantinham viáveis.

Com o objetivo do aumento da produção de mudas de palmeiras, recomenda-se que ocorra a remoção completa das partes dos frutos que envolvem as sementes nas espécies dos gêneros *Astrocaryum*, com o intuito de aceleração e uniformização dos processos germinativos de algumas espécies, além disso, outro procedimento bastante utilizado é a imersão em água, que é uma das quebras de dormência indicadas para as sementes de *Astrocaryum murumuru* Mart. (FERREIRA; GENTIL, 2006; SANTOS; FERREIRA, 2014).

Conforme na Tabela 3, Costa e Machi (2008) realizou a relação de forma sintetizada de algumas espécies do gênero *Astrocaryum*, os principais métodos disponíveis de quebra de dormência de sementes para favorecer sobremaneira os processos germinativos de palmeiras.

TABELA 3 – Métodos utilizados para acelerar a germinação de sementes de palmeiras e período de viabilidade das sementes.

Espécie	Métodos utilizados	Período de viabilidade
<i>Astrocaryum spp.</i>	Imersão das sementes em banho-maria (65°C a 70°C), por 2 a 3 semanas	Longo
<i>Astrocaryum aculeatissimum</i> (Schott) Burret	Remoção do epicarpo e mesocarpo e semeadura em areia a 30°C, 35°C	Intermediário
<i>Astrocaryum aculeatum</i> Meyer	Remoção do endocarpo, seguida da embebição das sementes em água, por 9 dias	Intermediário
<i>Astrocaryum murumuru</i>	Imersão das sementes em banho-maria (65°C a 70°C), por 2 a 3 semanas	Intermediário

Fonte: Adaptado de Costa e Machi, (2008).

2.3.2 Propagação assexuada

A propagação sexuada em algumas espécies acontece de forma restrita, onde estas espécies apresentam algumas dificuldades nos processos de multiplicação, diante disso existe a necessidade de utilização de outros meios para obtenção de plantas uniformes. Assim, estas espécies são propagadas vegetativamente, através da utilização de técnicas de cultura de tecido como importante instrumento para produção de outros indivíduos em larga escala (DANTAS et al., 2009).

Os novos indivíduos obtidos por métodos assexuais ou agâmicos são oriundos de processos através de técnicas de propagação vegetativa ou clonal a partir de uma planta matriz, buscando preservar a integridade do genótipo desta planta (TRACZ, 2005).

A propagação assexuada é uma alternativa que atende aos problemas de produção presentes quando realizada de forma convencional, as dificuldades encontradas em algumas plantas, inclusive nas espécies de palmeiras, seja a produção lenta das sementes ou a própria propagação das sementes exige altos custos (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000).

A propagação vegetativa pode ser resultado do cultivo *in vitro* de plantas ou através da macropropagação, alcança-se com a utilização desta técnica inúmeras vantagens com a utilização para a obtenção de indivíduos com características desejáveis, multiplicação uniforme, otimização de tempo, plantas mais resistentes a doenças, redução de custos, além da possibilidade de produção a partir de apenas uma planta matriz (TRACZ, 2005).

2.3.2.1 Micropropagação

A propagação vegetativa de plantas pode ser alcançada mediante o cultivo *in vitro* e é realizada por meio de técnicas de micropropagação, em que os materiais vegetativos são obtidos das gemas axilares, por embriogênese somática ou cultura de tecidos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Na cultura de tecidos

vegetais o explante (célula, tecido ou órgão) é submetido ao isolamento e cultivado sob condições de assepsia em um meio de cultura nutritivo (PASQUAL, 2001).

A base da cultura de tecidos é a presença de células totipotentes, células estas que contém toda a informação necessária para a regeneração de uma planta completa, em que as vantagens desta técnica são a micropropagação em massa e multiplicação rápida de genótipos superiores. (LEMOS, 2003).

A micropropagação é um recurso que aumenta o número de plantas geneticamente idênticas a partir de plantas selecionadas, alternativa que produz plantas durante o ano inteiro, com elevada qualidade fitossanitária, necessidade de um curto espaço de tempo e maior produção de plantas que possuem poucas sementes ou baixas taxas de germinação (CURTI, 2011).

A preparação, estabelecimento, multiplicação, alongamento, enraizamento e aclimação são etapas pertencentes aos protocolos de trabalhos de micropropagação (PASQUAL et al., 2001).

A propagação vegetativa *in vitro* ou micropropagação é considerado como técnica de aplicação prática e de maior impacto na cultura de tecidos (COSTA et al., 2009). Porém algumas dificuldades são enfrentadas quando da utilização da propagação *in vitro* em virtude da recalcitrância da maioria das espécies e do controle da morfogênese (GIRI et al., 2004).

A micropropagação tem se tornado uma técnica cada vez mais comum na sua utilização, existem vários registros de êxito na aplicação desta técnica em algumas espécies, dentre as quais se destacam: abacaxi (BARBOZA et al., 2006; COSTA et al., 2006), mandioca (SATO et al., 2001), espécies ornamentais (LEÃO, 2013), banana (OLIVEIRA, 2009) e ainda de algumas espécies de palmeiras (PEREIRA et al., 2005; LÉDO et al., 2007; GRANER, 2009; MATTIA, 2009).

Nos últimos anos existe um grande interesse a respeito aos mecanismos de aplicação da cultura de tecidos para propagação dos materiais vegetativos das espécies da família Arecaceae. Com isso, os estudos morfo genéticos e de micropropagação em palmeiras neotropicais tem utilizado as técnicas *in vitro* de forma mais frequente, principalmente pelo fato de que muitas espécies de palmeiras apresentam alto interesse econômico (COSTA; ALOUFA, 2006).

A embriogênese somática e a organogênese são respostas finais para os estudos vinculados as expressões morfogenéticas. Neste caso, a organogênese está voltada à obtenção de eixos caulinares monopolares e provenientes de gemas pré-existentes ou neoformadas (GUERRA; NODARI, 2006). Já a embriogênese somática é formada a partir de tecidos do explante ou de uma célula ou grupo desta em calos previamente formados (HANDRO; FLOH, 1990).

Todavia, a aplicação das técnicas *in vitro* exige o estabelecimento de protocolos eficientes de germinação, desenvolvimento e aclimação para avanços nos processos de adaptação às condições ambientais naturais. Porém, alguns entraves são enfrentados na micropropagação de muitas espécies, entre elas as de palmeiras (LÉDO et al., 2007).

Estudos indicam que o uso de técnicas de micropropagação em palmeiras são fontes de contribuição que agregam para as áreas da morfogenética e de avanços nos programas de melhoramento genético. No entanto, o estabelecimento de protocolos de micropropagação nas palmeiras são procedimentos lentos e complexos em razão de algumas dificuldades encontradas nas espécies, como um longo ciclo, hábitos de crescimento e ausência de métodos convencionais de propagação vegetativa (MATTIA, 2009).

As principais fontes de explantes no cultivo *in vitro* de palmeiras são os embriões zigóticos, tecidos foliares jovens, ápices caulinares, gemas laterais, ápices radiculares e inflorescências (ALMEIDA et al., 2012; SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2012).

As pesquisas que envolvem a utilização de técnicas de micropropagação de palmeiras são ainda incipientes, comparadas a diversidade de espécies descritas na família Arecaceae, mas estudos são observados em algumas espécies de palmeiras, como as de coqueiro-anão (*Cocos nucifera* L.) (LÉDO et al., 2007), dendê (*Elaeis guineensis*) (MATTIA, 2009; PÁDUA, 2012), pupunha (*Bactris gasipaes*) (GRANER, 2009), macaúba (*Acrocomia aculeata*) (GUIMARÃES et al., 2012), tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) (RODRIGUES et al., 2012) e de murmuru (*Astrocaryum ulei*) (SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2006).

Scherwinski-Pereira e colaboradores (2006) afirmam em seus estudos que assim como na maioria das palmeiras, o murmuru também apresenta uma grande variabilidade genética, assim a aplicação de técnicas de micropropagação é um importante avanço para a domesticação e exploração racional desta espécie.

2.3.2.2 Germinação *in vitro* de embriões zigóticos

A germinação de sementes é o método mais praticado para a realização de produção de mudas, porém algumas barreiras externas e internas podem estar presentes nas sementes. Dessa forma o cultivo *in vitro* é uma alternativa de otimização de tempo para a produção e aumenta as taxas de embriões germinados (PÁDUA, 2012).

Com isso, a propagação *in vitro* é uma técnica que facilita a multiplicação de plantas com dificuldades de germinação, em que propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, estabelecida como uma técnica de grande importância para as palmeiras (LEDO et al., 2001; MACIEL et al., 2000). Assim, a cultura de embriões zigóticos consiste no isolamento e cultivo asséptico de embriões submetidos em meios de cultura capaz de sustentar o crescimento e desenvolvimento (BANDEIRA, 2008).

Com o cultivo de embriões *in vitro*, estudos sobre os processos germinativos e o desenvolvimento de plântulas são estabelecidos e constitui uma alternativa para a propagação de espécies que apresentam limitações fisiológicas (TZEC-SIMA et al., 2006).

A cultura de embriões zigóticos é um método alternativo dentre as técnicas de cultura de tecidos, ocorre à reprodução *in vitro* dos embriões zigóticos. Entre as vantagens da aplicação desta técnica são observadas o acompanhamento das necessidades nutricionais do embrião durante o processo de desenvolvimento *in vitro*, curto espaço de tempo para a germinação das plantas, superação da dormência das sementes e teste de viabilidade de sementes (PEREIRA et al., 2006).

A aplicação dos protocolos da germinação *in vitro* de embriões zigóticos é bastante empregada nas espécies de palmeiras, em geral estas espécies tem um crescimento lento e maiores dificuldades de germinação das sementes (SPERA et al., 2001). Os estudos de cultivo de embriões de palmeiras são importantes para o estabelecimento de programas de melhoramento genético, intercâmbio de germoplasma, qualidade fitossanitária e conservação de materiais (SILVA, 2005).

No entanto, a definição do meio de cultura para a manutenção do crescimento e desenvolvimento dos embriões zigóticos é um aspecto de

importância para o meio de cultura de embriões. Os nutrientes promovidos variam de acordo com a maturação das sementes e com a espécie, onde estes em sua composição devem se aproximar da composição do endosperma ou do saco embrionário (BURUN; POYRAZOGLU, 2002; BALZON, 2008).

Respostas promissoras foram obtidas com a aplicação de técnicas de germinação de embriões zigóticos de muitas palmeiras, resultados com expressões representativas referente a taxas de germinação, uniformidade das plantas como as de *Cocos nucifera* (MOLLA et al., 2004; TZEC-SIMÁ et al., 2006; LEDO et al., 2007), *Euterpe oleracea* (LEDO et al., 2001), *Syagrus oleracea* (MELO et al., 2001), *Mauritia flexuosa* (SPERA et al., 2001), *Hyophorbe lagenicaulis* (SARASAN et al., 2002) e também de *Astrocaryum ulei* (PEREIRA et al., 2006).

Desta forma, o conhecimento científico sobre a germinação *in vitro* de embriões zigóticos da espécie de *Astrocaryum ulei* são restritos, porém com a interação entre a concentração de sacarose e a idade fisiológica dos embriões houve diferenças significativas nas taxas de germinação de embriões imaturos e maduros (PEREIRA et al., 2006).

2.3.2.3 Meios de Cultura

A determinação do meio de cultura é um aspecto importante na cultura de embriões zigóticos, responsável pela manutenção do crescimento e desenvolvimento da planta. Assim, os meios de cultura devem apresentar em uma composição nutritiva que possibilite o desenvolvimento dos embriões e seja adequado de acordo com as exigências nutricionais de cada espécie (PEREIRA et al., 2006).

A cultura de embriões zigóticos tem como exigência a determinação de um meio de cultura adequado para a sustentação do crescimento contínuo do embrião, pois a maturação do embrião é preponderante para o nível de exigência de concentrações do meio de cultura (BALZON, 2008).

No que concerne às composições nutricionais dos meios de cultura, existe uma diferenciação de concentrações entre os meios de macronutrientes e

micronutrientes, como vitaminas, compostos orgânicos, fonte de carbono e outras substâncias complexas (GUEDES, 2008).

Os processos metabólicos são influenciados pelos níveis de nutrientes orgânicos e inorgânicos, com função de promover o crescimento e diferenciação dos tecidos (MALDANER et al., 2006). Os elementos minerais também apresentam uma participação significativa de suporte aos processos de regeneração, principalmente para os minerais essenciais que são importantes ao crescimento das plantas *in vitro* (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

De acordo com Cid (2001), o desenvolvimento do explante no cultivo *in vitro* deve-se aos componentes orgânicos, pois estes são indispensáveis como composição ao meio de cultura. Observa-se que as concentrações de sacarose devem ser determinadas e ajustadas para que ocorra o desenvolvimento do explante, pois o aumento, redução ou eliminação da sacarose pode ser determinante no sucesso do enraizamento *in vitro* para muitas plantas (CALAMAR; KLERK, 2002; SANTOS, 2007).

A manutenção da osmolaridade do meio de cultura e promoção do crescimento embrionário está relacionada com o papel fundamental que os carboidratos atuam no meio de cultivo (HU; FERREIRA; 1998). Ainda, o ferro que contribui significativamente para as transformações energéticas, tem uma atuação como ativador enzimático e influencia no desenvolvimento *in vitro*, como também promove os processos de oxidação dos explantes (CALDAS et al., 1998).

O nitrogênio é considerado como um elemento chave no meio de cultura, principalmente do MS, pois estes elementos submetidos em diferentes formas atingem inúmeras respostas *in vitro*, como a organogênese e a embriogênese somática (LELJAK-LEVANIC' et al., 2004; ELKONIN; PAKHOMOVA, 2000).

Salienta-se ainda que a água seja outro componente primordial nos meios de cultura, encontrado em maior quantidade nos meios e essenciais na obtenção de respostas eficazes na cultura de tecidos. A água é submetida a uma purificação através de métodos de destilação, eliminando os compostos orgânicos (CALDAS et al., 1998).

O estado físico do meio de cultura é outra característica que proporciona eficiência as diversas espécies vegetais testadas aos meios de cultivo, principalmente os meios de cultura em estado líquido, pois os rendimentos do meio de cultura neste estado físico são iguais ou superiores aos de meios semi-

sólidos. Além de que os meios de cultura com consistência líquida apresentam outras vantagens como a facilidade no preparo e manipulação, utilização em menor volume e redução de custo (SCHERWINSKI-PEREIRA; FORTES, 2003).

De acordo com as exigências de uma planta, os meios de cultura são modificados e visam atender as suas particularidades (CORREIA et al., 1995). Desta forma, os meios mais empregados conforme suas formulações são: MS Murashige e Skoog (1962), com altas concentrações de sais, sobretudo os íons nitrato e amônio (WU et al., 2007; TAKEDA et al., 2007), WPM (Woody Plant Medium), comparado com o anterior, apresenta concentrações mais baixas em sais, principalmente de nitrogênio e potássio (RENYING et al., 2007; YOU et al., 2007), LS Linsmaier e Skoog (1965), Y3 Eeuwens (1976) (LEDO et al., 2007; FUENTES et al., 2005).

Na elaboração de meios de cultura, o carvão ativado é bastante utilizado nos protocolos de cultura de tecidos em palmeiras. Este composto é o responsável por permitir a promoção da adsorção dos exudatos liberados pelo explante, os quais provocam a oxidação e ainda possuem propriedades de adsorção e redução da disponibilidade de auxina exógena no meio de cultura (MELO et al., 2001).

Nos trabalhos de Cardoso e colaboradores (2008) foi observado que com a aplicação do carvão ativado no experimento, os processos de oxidação são atenuados ou implica na ausência de oxidação, onde os autores ratificam que o carvão ativado atua na adsorção de metabólitos produzidos pelo explante *in vitro*.

Neste contexto, várias espécies de palmeiras foram testadas em diferentes meios de cultura, no qual foi avaliada a influência do tipo de meios de cultura e concentrações na germinação *in vitro* de plantas, conforme observado nos estudos de coqueiro (*Cocos nucífera* L.), os embriões foram inoculados em meios de cultura MS e Y₃ (SILVA, 2002); os embriões zigóticos de tucumã (*Astrocaryum huaimi* Mart.) foram inoculados em meios de cultura MS ou WPM, diferenciados nas concentrações de meio 25%; 50%; 75% e 100% (GUIMARÃES et al., 2012); os embriões zigóticos de *Astrocaryum aculeatum* G. Mey foram inoculados em meios de cultura semi-sólido MS suplementado com vitaminas, e em seguida os embriões sobreviventes transferidos para meio MS suplementado com 0,0; 1,0; 3,0 e 5,0 mg L⁻¹ de BAP (RODRIGUES et al., 2013); e de embriões de murmuru (*Astrocaryum ulei*) inoculados em meio de cultura de MS com 75% das

concentrações de sais, suplementado com 2,5 g.L⁻¹ de ácido giberélico e diferentes concentrações de sacarose: 15,30 e 45 g.L⁻¹ (PEREIRA et al., 2006).

2.3.2.4 Reguladores de Crescimento

Em geral, na cultura de tecidos os reguladores de crescimento vegetal são aplicados ao meio com o objetivo de suprir as possíveis deficiências de teores endógenos de hormônios e de estimular o alongamento e a multiplicação dos explantes (TORRES et al., 1998). Os explantes quando submetidos em um ambiente *in vitro*, ocorrem várias reações fisiológicas e bioquímicas nas células, assim as células do material vegetativo iniciam a responder a diversos estímulos (OLIVEIRA, 2009).

Diante disso, os reguladores de crescimento de plantas são substâncias que promovem processos fisiológicos em concentrações baixas, responsáveis pela citodiferenciação e da morfogênese em ambientes *in vitro* (FRANKENBERGER JR.; ARSHAD, 1995). Tais substâncias são classificadas como hormônios vegetais, como: auxinas, giberilinas, citocininas, retardadores, inibidores de etileno, além de outras moléculas com efeitos semelhantes como os brassinosteróides, ácido jasmônico, ácido salicílico e poliaminas (CATO, 2006).

As auxinas são reguladores de crescimento vegetal bastante utilizado no cultivo *in vitro*, principalmente na regulação da embriogênese somática (GAJ, 2004). Diante disso, a observação da diferenciação de respostas em razão da espécie, genótipo ou mesmo do tecido do explante evidencia que somente tecidos responsivos reagem à presença das auxinas (SOMLEVA et al., 1995).

Nos cultivos *in vitro*, as auxinas são consideradas como as mais importantes na regulação da embriogênese somática. As mais utilizadas são o 2,4-D (49%), ANA (27%), AIA (6%), AIB (6%), Picloram (5%) e Dicamba (5%) (GAJ, 2004; JIMENEZ et al., 2005).

Na embriogênese somática utilizam-se em conjunto com as auxinas, algumas citocininas, pois a interação dos dois grupos são mais efetiva na indução da embriogênese. Entre as citocininas mais utilizadas estão o BAP (57%), cinetina (37%), zeatina (3%) e thidiazuron (3%). (RAEMAKERS et al., 1995).

Trabalhos de cultivo *in vitro* com a aplicação de reguladores de crescimento vegetais são frequentemente realizados em várias espécies de palmeiras, como as de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) que utilizam reguladores vegetais como o 2,4-D (SAMOSIR, 1998), o 2,4-D e o ABA (FERNANDO; GAMAGE, 2000) e o 2,4-D associado à ABA e o GA₃ (MONTERO-CÓRTEZ et al., 2010).

No caso da bocaiuva que foram testadas duas auxinas 2,4-D e Picloram para induzir a calogênese a partir de embriões zigóticos (TABAI, 1992). Como também em dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), cultivo *in vitro* com a aplicação de picloram ou 2,4-D para a obtenção de embriões somáticos (GUEDES et al., 2011). Assim também como Balzon (2008) testou com o dendezeiro as auxinas 2,4-D e Picloram em embriões zigóticos.

Nos trabalhos desenvolvidos em *Astrocaryum ulei* o meio de cultura foi adicionado de 2,5 mg. L⁻¹ de ácido giberélico (AG₃), com a suplementação deste regulador, houve influência na taxa de germinação dos embriões zigóticos (PEREIRA et al., 2006).

2.3.2.5 Embriogênese Somática

De maneira geral, a embriogênese somática é um tipo de técnica de propagação assexuada incluída na clonagem de plantas *in vitro* e pode ser denominada também de embriogênese assexuada, adventícia ou não zigótica (GUEDES, 2008).

A embriogênese somática é um processo em que as células somáticas haplóides ou diplóides diferenciam-se em plantas completas seguindo estágios de citodiferenciação embriogenéticos características (WILLIAMS; MAHESWARAN, 1986; EMONS, 1994). Desta forma, a embriogênese somática tem uma importância na aplicação comercial de espécies florestais em função da multiplicação de genótipos superiores e a multiplicação de genótipos nos diferentes ciclos de seleção genética (SUTTON, 2002).

Pereira e colaboradores (2007) definem a embriogênese somática como um processo no qual as células somáticas desenvolvem-se através de distintos

estágios embriogênicos, que resulta na propagação acelerada de clones superiores e na manutenção de híbridos interespecíficos.

A embriogênese somática envolve várias etapas que contribuem para o processo de regeneração como a formação de massas pró-embriogênicas de células, formação do embrião somático, maturação e regeneração da planta (VON ARNOLD et al., 2002), assim depende como a espécie é submetida, há outras etapas básicas como: globular, cordiforme, torpedo e cotiledonar (TEIXEIRA et al., 1994; TITON et al., 2007).

Diante disso, os embriões somáticos das palmeiras apresentam características morfológicas, bioquímicas e moleculares similares às do embrião zigóticos, onde estes embriões somáticos são formados com uma estrutura bipolar constituída de ápice caulinar e radicular (PEREIRA et al., 2007). Também nas palmeiras, a regeneração *in vitro* é parte complementar da embriogênese somática, pois esta via morfogênica aumenta o número de plantas regeneradas (STEINMACHER et al., 2007b).

A embriogênese somática *in vitro* ocorre por intermédio de duas maneiras: embriogênese somática direta e embriogênese somática indireta (BALZON, 2008).

A embriogênese somática direta corresponde ao processo no qual os embriões somáticos originam-se dos tecidos matrizes sem a formação de estágios intermediários de calo, pois no padrão direto são formadas estruturas muito semelhantes aos embriões zigóticos a partir de tecidos do explante (GRANER, 2009). Segundo Handro e Floh (1990), os embriões somáticos originados pelo processo direto podem originar-se a partir de camadas internas ou superficiais num explante. Embora, os embriões somáticos originam-se de células únicas e que o desenvolvimento de centros meristemáticos seja característico da organogênese (PARROT et al., 1991). Geralmente na embriogênese somática direta o cultivo dos explantes é realizado apenas em um meio de cultura, adicionado de apenas uma citocinina (GUEDES, 2008).

Já a embriogênese somática indireta corresponde ao processo pelo qual os embriões somáticos se formam a partir de um calo, em que as células apresentam diferentes estágios de diferenciação e diferentes graus de determinação, podem adquirir novas competências mediadas por mensageiros químicos específicos, pois no padrão indireto são formados de uma célula ou

grupo destas em calos previamente formados (SHARP et al., 1980, HANDRO; FLOH, 1990).

Os calos são massas de células desorganizadas que se diferenciam no processo de multiplicação, resultam em tecidos ou órgãos que podem resistir a danos físicos ou químicos (TORRES; CALDAS, 1990). Destaca-se entre os diversos tipos de calos, os embriogênicos, que são induzidos no meio de cultura e que se originam individualmente na superfície dos embriões somáticos (ANGELO, 2009).

A embriogênese somática indireta apresenta alta relação auxina/citocinina para formação de calos não diferenciados em um meio de cultura inicial e baixa relação (GUEDES, 2008).

No caso da forma indireta, a ocorrência acontece de forma padrão na maioria das vezes, onde existe uma necessidade de ocorrer uma desdiferenciação antes da aquisição de competência para a rota embriogênica (GUERRA et al., 1999).

Desta maneira, os processos de divisão e desdiferenciação das células embriogênicas são necessários na embriogênese somática. Neste caso, a desdiferenciação é responsável pela definição de um novo padrão de desenvolvimento a partir da alteração dos padrões dos processos de transcrição e tradução genômica (FEHÉR et al., 2002).

As formações de células embriogênicas não estão completamente estabelecidas, devido que a embriogênese somática em palmeiras exija a participação de processos de aplicação de auxinas e indução de calos (VIÑAS; JIMÉNEZ, 2011). Nisso, alguns mecanismos são desenvolvidos no intuito de potencializar e aplicar a indução e a modulação dos protocolos de embriogênese somática em palmeiras (FREITAS, 2014).

As concentrações adequadas de reguladores de crescimento, duração das etapas envolvidas no processo, origem e idade fisiológica do explante a ser cultivado e do estado fisiológico da planta são fatores primordiais para aumento do número de embriões somáticos de uma espécie (GUEDES, 2008). Diante disso, os protocolos de embriogênese somática precisam atender estes critérios para alcançar maior qualidade dos embriões somáticos (BALZON, 2008).

Porém, as utilizações dos reguladores de crescimento não é a única forma para que aconteça a indução embriogênica das células somáticas, outros fatores

são primordiais para os processos de formação de embriões somáticos, como os choques térmicos, variações nos níveis de pH e a aplicação de produtos químicos para promover a indução de células somáticas (GUERRA et al., 1999).

Na embriogênese somática, alguns protocolos foram descritos para algumas espécies de palmeiras, como *Cocos nucifera* (VERDEIL et al., 1994), *Areca catechu* (KARUN et al., 2004), *Euterpe edulis* (SALDANHA et al., 2006), *Elaeis guineenses* (TEIXEIRA et al., 1994; THUZAR et al., 2012; BALZON et al., 2013), *Phoenix dactilyfera* (FKI et al., 2003; GUEYPE et al., 2009), *Euterpe oleracea* (SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2012) e *Bractis gasipaes* (STEINMACHER et al., 2011).

Diante dos aspectos supramencionados, existe na literatura poucos trabalhos de desenvolvimento de protocolos de embriogênese somática em palmeiras (LAKSHMANAN et al., 2006; GUEDES, 2008). Porém estudos de embriogênese somática de murmuru (*Astrocaryum ulei*) a partir de uso de propágulos formados por embriões zigóticos oriundos de sementes em diferentes estágios de maturação são incipientes, por isso existe uma necessidade uma melhor caracterização e entendimento das etapas do processo de embriogênese somática para esta espécie.

2.3.2.5.1 Etapas da embriogênese somática

A embriogênese somática na maioria das espécies vegetais é utilizada como metodologia mais promissora, porém se reconhece a necessidade de evolução. Conforme os protocolos de embriogênese somática, a metodologia é composta de algumas etapas fundamentais: indução, multiplicação, maturação dos embriões somáticos e germinação dos embriões somáticos. Baseado nos trabalhos desenvolvidos por Durzan (1989), o autor descreveu as etapas de embriogênese de embriões somáticos, conforme demonstra a Figura 5.

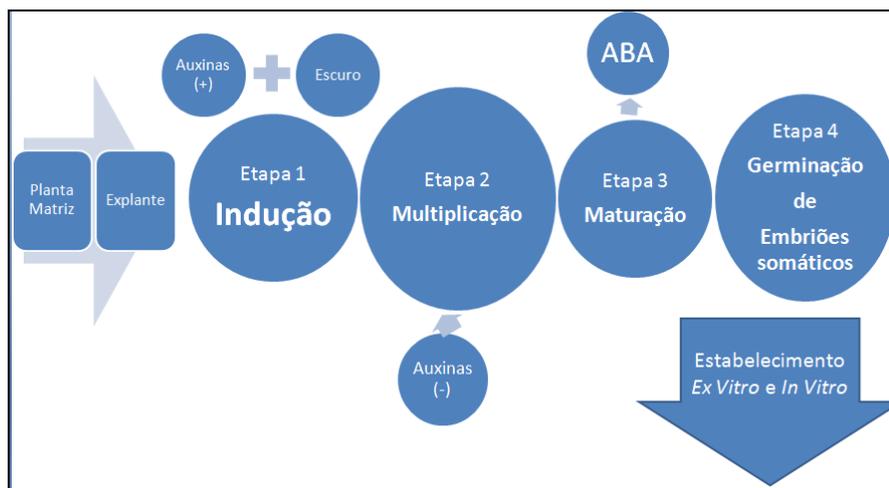


Figura 5 - Esquema demonstrativo do protocolo das etapas da embriogênese somática.

Fonte: Adaptado de Durzan (1989).

2.3.2.5.1.1 Indução da embriogênese somática

A indução da embriogênese somática é iniciada a partir de um processo morfo genético através do explante, este submetido a um estímulo físico, químico ou biológico, pois é uma etapa com várias restrições para o estabelecimento de culturas embriogênicas *in vitro* (GUERRA; NODARI, 2006).

Na indução da embriogênese somática as células são reprogramadas em consequência de processos de alterações gênicas dos explantes. Diante disso, os processos embriogênicos não são determinados somente por fatores genéticos, mas influenciados também pelo meio de cultivo e qualidade dos explantes (MERKLE et al., 1995; LOYOLA-VARGAS et al., 1999).

A indução é usualmente obtida de explantes embrionários, juvenis ou maduros cultivados em meios de cultura semi-sólidos ou sólidos e dependentes de reguladores de crescimento que atuam nos processos de calogênese, embriogênese e organogênese através da adição de auxinas ao meio de cultura com função de expansão, alongamento e divisão celular, como ANA, 2,4-D, Picloram e Dicamba (KRIKORIAN, 1991; GUERRA; HANDRO, 1998; BALZON, 2008), podendo ou não estar associada as citocininas BAP, KIN e TDZ (CARVALHO et al., 2004; REY et al., 2006; STEIMACHER et al., 2007a; JOGESWAR et al., 2007).

Além das auxinas mencionadas, outros indutores de crescimento podem contribuir na embriogênese somática, como estresse salino, inoculação com altos teores de sacarose, tecidos e estágios de desenvolvimento do explante, níveis de hormônios endógenos e incubação em altas temperaturas e luminosidades (KIYOSUE et al., 1999; KAMADA et al., 1994; CARMAN, 1990; JIMENEZ, 2001). Normalmente os explantes são condicionados em locais isentos de luminosidade e as temperaturas dos ambientes dos explantes devem variar em torno de 25°C (BALZON, 2008).

A indução de embriogênese somática é importante, pois é a etapa que as células embriogênicas diferenciam-se e adquirem uma competência embriogênica (NAMASIVAYAM, 2007). Guerra (1989) define a competência celular como a capacidade de um explante de expressar um potencial de indução, ou seja, células que realizem a chamada indução diretiva através de mudanças na competência ou através de uma iniciação de uma resposta particular de diferenciação, denominada de indução permissiva.

A embriogênese somática *in vitro* ocorre por intermédio da participação do processo de indução embriogênica somática direta e indireta. Nos protocolos de indução via direta, nota-se que os explantes, denominados de embriões somáticos globulares iniciam com respostas morfogênicas através da formação inicial de estruturas globulares brancas e translúcidas. Nas observações iniciais dos protocolos de indução via indireta, verifica-se que no início ocorre a diferenciação de calo e o aparecimento de regiões com massas ou complexos celulares pró-embriogênicos, caracterizados por serem brancos e translúcidos. (GUERRA et al., 1989).

De acordo com Steinmacher e colaboradores (2007b), a utilização de embriões zigóticos como fonte de explantes apresentam limitações nos programas de conservação, porém não exclui optar pelos embriões zigóticos como modelos de estudos de embriogênese somática em murmuru, pois existe uma taxa relativamente alta de indução em palmeiras.

2.3.2.5.1.2 Multiplicação de culturas embriogênicas

Após a indução da embriogênese somática, segue-se a multiplicação das culturas embriogênicas. A multiplicação é caracterizada pela redução nos níveis dos reguladores de crescimento nos meios de cultivo (GUERRA et al., 1999). A partir desta etapa inicia-se as suspensões celulares, com concentrações médias de reguladores na faixa de 2 a 5 μM para as auxinas e de 2 a 5 μM para as citocininas (GUPTA et al., 1993), permitem ciclos repetitivos de divisão celular e controle dos processos de diferenciação, assim obtêm como resultados em culturas constituídas por células pró-embrionárias ou embriões somáticos em estágios globulares iniciais de desenvolvimento (GORRET et al., 2004).

Geralmente as culturas embriogênicas são cultivadas em biorreatores ou frascos Erlenmeyers sob agitação ou através da utilização de agitador rotatório (FKI et al., 2003; SANÉ et al., 2006; ZOUINE et al., 2007). A multiplicação das culturas embriogênicas é baseada na capacidade dos calos embriogênicos darem continuidade à origem de embriões somáticos durante muitas subculturas, por longos períodos de tempo (BARTOS, 2012).

Padilha (2013) afirma que após a transferência dos calos para os meios de multiplicação de massas da palmeira *Acrocomia aculeata*, resultou em uma diferenciação morfológica entre os calos, caracterizados por quatro tipos morfológicos: calos compactos, calos friáveis, calos friáveis mucilaginosos e calos nodulares. Observações estas que podem inferir como base para o processo de multiplicação de culturas embriogênicas para a espécie *Astrocaryum ulei*.

2.3.2.5.1.3 Maturação dos embriões somáticos

A fase seguinte, após a etapa de multiplicação de culturas embriogênicas é a etapa de maturação dos embriões somáticos. A maturação dos embriões somáticos é importante devido à necessidade de conhecimento detalhado dos processos e fatores que promovem a embriogênese zigótica, e ainda, a utilização

dos conhecimentos de forma integral desta etapa no cultivo *in vitro* de embriogênese somática (GUERRA et al., 1999).

É nesta etapa que ocorre a interrupção de ciclos repetitivos de divisão celular e o fornecimento de estímulos fisiológicos, bioquímicos e ambientais. A maturação dos embriões somáticos ocasiona a diferenciação celular e contribui para os ciclos de desenvolvimento e de maturação, origina um grande número de embriões somáticos maduros de elevadas condições qualitativas e com grande potencial para a transformação em plantas (GUERRA et al., 1999).

Os embriões somáticos na etapa de maturação estão suscetíveis a alterações morfológicas e bioquímicas, deposição de materiais armazenados, interrupção da germinação e tolerância à dessecação, principalmente em espécies com sementes ortodoxas (THOMAS et al., 1993). O início do processo de maturação ocorre quando existe a acumulação de substâncias de armazenamento, como proteínas, lipídeos e aminoácidos, substâncias estas fundamentais para o convertimento dos embriões somáticos em plantas (THOMAS, 1993). Também é caracterizada pela síntese de proteínas e de carboidratos, quando os embriões atuam para torná-lo metabolicamente quiescente e tolerante à dessecação (BAUD et al., 2002).

No geral, os resultados são influenciados pelo aumento da osmolaridade do meio de cultura com a adição de mio-inositol, sorbitole manitol (LARA; MONTEK, 2002; LEMOS et al., 2002), devido a relação com a transição do ciclo divisão e a diferenciação celular na fase de maturação.

Na maturação, um dos requisitos essenciais para a manutenção dos embriões somáticos é a suplementação das culturas embriogênicas com ácido abscísico (ABA), pois este hormônio vegetal tem função de reduzir o processo de embriogênese secundária ou até mesmo inibir a germinação precoce (BOZHKOV; VON ARNOLD, 1998).

Além dos compostos citados, o ácido abscísico exerce efeito na etapa de maturação e impedindo processos de clivagem e de gemação, do qual atua nos estágios iniciais da diferenciação (HUONG et al., 1999; SAHRAWAT; CHAND, 2001). A adição do ABA combinado ao meio de cultura semi-sólido é importante para a maturação dos embriões zigóticos, pois permite a queda na metilação global do DNA e propici a expressão de proteínas essenciais para a maturação dos embriões somáticos (HERINGER, 2013).

A aplicação do ácido abscísico é utilizada com bastante frequência nas pesquisas voltadas a estudos de maturação dos embriões somáticos de palmeiras, tais como *Phoenix canariensis* (Huong et al., 1999), *Cocos nucifera* L. (FERNANDO; GAMAGE, 2000), *Phoenix dactylifera* (ZOUINE et al., 2005; OTHMANI et al., 2009), porém não existem registros suficientes na literatura de trabalhos relacionando este composto com a maturação de embriões somáticos de *Astrocaryum ulei*.

2.3.2.5.1.4 Germinação dos embriões somáticos

A germinação dos embriões somáticos consiste na formação de plântulas a partir de embriões somáticos maduros. De acordo com Rodriguez e Wetzstein (1994) a germinação de embriões e conseqüentemente as conversões dos embriões somáticos em plantas podem ser influenciadas pelas características morfológicas destes embriões.

Nos protocolos de embriogênese somática a germinação de embriões é realizada a partir de meios de culturas isentos de reguladores de crescimento. Diante disso, muitos autores recomendam que na etapa de germinação de embriões somáticos aconteça a adição de citocininas ao meio de cultura, pois em algumas espécies foram usados alguns tipos de citocininas que melhoraram as taxas de germinação dos embriões somáticos (ABERLENC-BERTOSI et al., 1999; SWATI et al., 2001; KARUN et al., 2004).

A pesquisa de Bartos (2012) descreve a etapa de germinação dos embriões somáticos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), que utiliza os calos embriogênicos inoculados em frascos de Erlenmeyer estéreis e contem meio líquido, com densidade inicial de 5 mg/ml e temperatura de 17 a 24°C em agitadores orbitais a 90-100 rpm, do qual as avaliações do número de embriões foram obtidas após 60 dias de cultivo, proporcionou a maior sincronização na maturação dos embriões.

A etapa de germinação de embriões somáticos foi descrita em alguns trabalhos em palmeiras, entre elas está a de coqueiro, em que nesta fase houve a diminuição da concentração de auxina (2,4-D) no meio de cultura e foi adicionado

o BAP com finalidade de diferenciação bipolar dos embriões (VERDEIL et al., 1994). Para a germinação dos embriões somáticos de tamareira (*Phoenix dactylifera*) foi aplicado no meio de cultura, 30 g. L⁻¹ de sacarose, 0,2 g.L⁻¹ de glutamina e 0,15% de carvão ativado, com a suplementação de 0,05 a 0,1 mg. L⁻¹ de ANA e 1 mg. L⁻¹ de 2-iP (EKE et al., 2005). No dendezeiro (*Elaeis guineensis*) houve um aumento de 60% para 73% na taxa de germinação de embriões somáticos, justamente pelo efeito da concentração de BAP sobre a porcentagem de embriões, testados nas concentrações de 0, 1, 5 e 10 µM (ABERLENC-BERTOSSI et al., 1999).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir é descrito o local do experimento, a área de localização das plantas matrizes, coleta dos frutos, caracterização dos caracteres de medição dos diásporos e amêndoas de murmuru, bem como são detalhados os procedimentos utilizados para os experimentos de germinação *in vitro* de embriões zigóticos e de indução de calos para embriogênese somática.

3.1 Área de localização do experimento, plantas matrizes e coleta dos frutos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Propagação e Conservação *in vitro* de Plantas da Universidade Federal do Acre – UFAC, localizado na cidade de Rio Branco, AC.

Os frutos foram coletados de três árvores, aparentemente sadias, vigorosas e com boa produtividade de frutos (Tabela 4), existentes no fragmento florestal primário do Parque Zoobotânico (09°57'22"S; 67°52'10"; 164 metros) da Universidade Federal do Acre (PZ/UFAC) que abrange uma área de aproximadamente 100 hectares, localizado na BR-364, km 4, Distrito Industrial, na região Leste de Rio Branco – Acre (Figura 6).

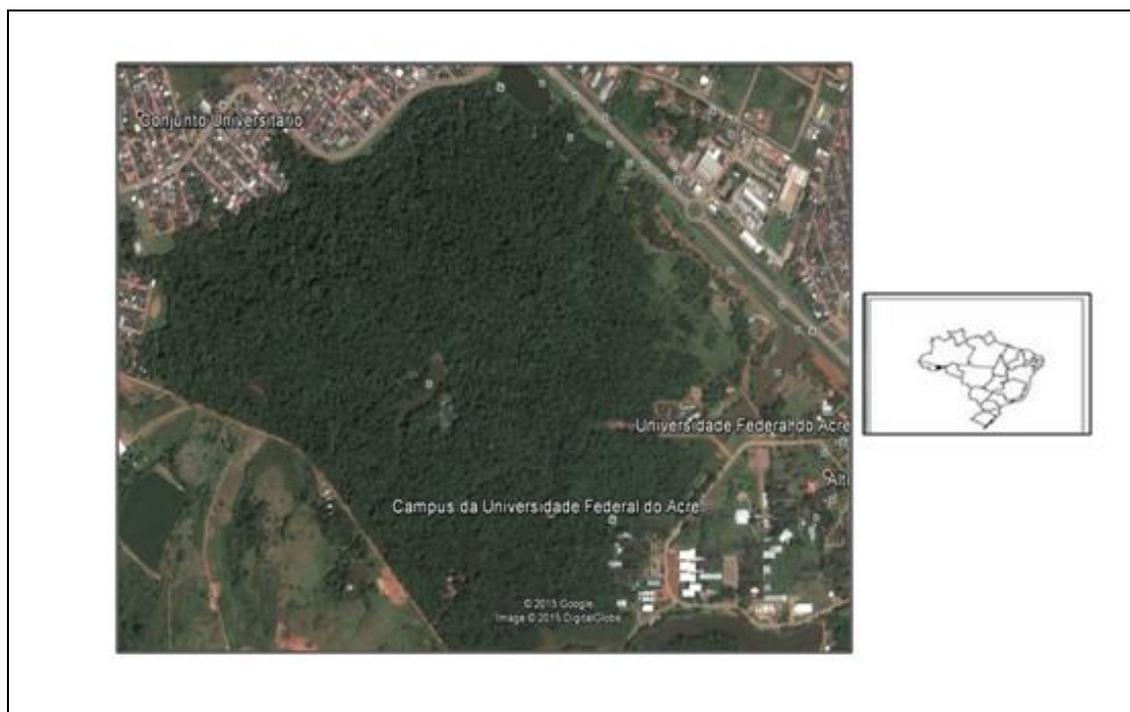


Figura 6 - Fragmento Florestal do Parque Zoobotânico, Rio Branco, Acre.
 Fonte: Imagem de satélite Google Earth. Edição da imagem: Lima, J. P. da C.

TABELA 4 - Coodenadas geográficas das três árvores utilizadas no estudo de *Astrocaryum ulei*, Rio Branco, Acre, 2014.

MATRIZ	COORDENADAS	ALTITUDE (m)	LOCAL
Árvore 1	06° 23' 861" S 88° 99' 314" W	177	Entrada do PZ.
Árvore 2	06° 23' 551" S 88° 99' 466" W	166	Próximo ao lago, direção ao viveiro
Árvore 3	06° 23' 350" S 88° 99' 581" W	166	Viveiro do PZ, próximo a casa de ferramentas

A coleta dos cachos foi realizada no mês de novembro de 2013 e os mesmos foram coletados em estado de maturação maduros, sendo retirado um cacho por árvore (planta matriz) com o auxílio de uma escada e de um podão, em seguida colocados em sacos de náilon e levados ao Laboratório de Propagação e Conservação *in vitro* de Plantas.

Os frutos foram imersos em água para facilitar o despulpamento e separação manual das diferentes partes componentes do fruto: exocarpo (casca), mesocarpo (polpa) e endocarpo (cobertura fibrosa).

3.2 Caracterização dos diásporos de murmuru

Antes que fossem iniciadas as determinações dos caracteres, os diásporos foram tratados com solução aquosa de hipoclorito de sódio (2,0 a 2,5% de cloro ativo) e enxaguados em água destilada e autoclavada, no intuito de promover o controle de doenças fúngicas. Depois foram selecionados os diásporos e eliminados os que apresentavam danos mecânicos, ataques de pragas e má formação. Por fim os diásporos foram secados em temperatura ambiente de laboratório por um período mínimo de 24 horas.

Após a seleção e secagem, os diásporos foram devidamente identificados com uma numeração para melhorar a organização e manipulação, depois acondicionados em geladeira até a realização das avaliações descritas a seguir. A caracterização dos diásporos dos frutos de murmuru (*Astrocaryum ulei*) foi realizada em condições de laboratório com suporte dos seguintes materiais: régua milimétrica, balança eletrônica analítica (0,0001 g), paquímetro digital com precisão de 0,1 mm, facas, cabos e lâmbas de bisturis, pinças e luvas. As análises foram realizadas em dias alternados e para cada matriz foram utilizados 30 diásporos, com 90 sementes no total.

Foram avaliadas as seguintes características: comprimento do diásporo (mm), diâmetro equatorial do diásporo (mm), diâmetro dos polos do diásporo (mm), espessura do endocarpo do diásporo (mm) e massa do diásporo (g). O comprimento do diásporo (CDD) foi medido com o auxílio de uma régua milimétrica, o diâmetro equatorial dos diásporos (DED), diâmetro dos polos dos diásporos (DPD) e espessura do endocarpo dos diásporos (EED) foram mensurados com o auxílio de paquímetro digital e a massa dos diásporos (MDD) foi mensurada através de uma balança analítica (Figura 7).



Figura 7: Diásporo (A), comprimento (B) e massa do diásporo (C).

Para a caracterização da amêndoa e do embrião zigótico foram realizados cortes com o auxílio de um bisturi, e avaliadas as características: comprimento da amêndoa (mm), diâmetro equatorial da amêndoa (mm), massa da amêndoa (g), comprimento do embrião (mm) e massa do embrião zigótico (g). O comprimento da amêndoa (CDA) foi medido através de uma régua milimétrica, o diâmetro equatorial da amêndoa (DEA) e comprimento do embrião zigótico (CEZ) foram medidos com um paquímetro e a massa da amêndoa (MDA) e massa do embrião zigótico (MEZ) através da balança analítica.



Figura 8: Obtenção da amêndoa (A), comprimento da amêndoa (B), e detalhe do embrião zigótico (C).

Os dados obtidos da caracterização dos diásporos, amêndoas e embrião zigótico foram submetidos à análise estatística descritiva e distribuição de frequências utilizando os programas Excel 2007 e o Assistat 7.7 betas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificação da normalidade de dados e sua

distribuição e homogeneidade da variância dos erros. Verificou-se que os dados expressos em unidades não atendiam às pressuposições da análise de variância, então de acordo com recomendações ocorreu a transformação matemática em $x^{1,1}$ para que fossem atendidos os padrões de normalidade, conforme metodologia proposta nos trabalhos de Cruz et al., (2004).

3.3 Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru

A germinação *in vitro* de embriões zigóticos foi conduzida a partir de frutos maduros da matriz (árvore) 2 (Tabela 4).

O processamento dos frutos e obtenção dos diásporos seguiram metodologia descrita no item 3.2. Para obtenção da amêndoa, os diásporos tiveram o endocarpo quebrado com auxílio de morsa. Em seguida, em condições de fluxo laminar horizontal, as amêndoas foram submetidas à desinfestação pela imersão em álcool etílico 70% (v/v) durante 3 minutos, depois imersas em solução de hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de cloro ativo) durante 20 minutos, com a adição de uma gota de tween-80 a cada 100 mL de solução. Posteriormente foram efetuados três enxagues com água destilada e autoclavada para remoção do excesso de hipoclorito de sódio, e as amêndoas imersas em água destilada e autoclavada por 12 horas para facilitar a obtenção do embrião zigótico.

A obtenção do embrião foi realizada com auxílio de alicate, pinça e bisturi, mediante cortes em volta do poro germinativo. O cultivo *in vitro* foi realizado em tubos de ensaio (25mmx150mm), com 10 mL de meio de cultura. Os tratamentos, dispostos em delineamento inteiramente casualizado, foram representados por três formulações (MS, WPM e White) de meios de cultura associadas a concentrações (15, 30 e 45 g. L⁻¹) sacarose (Tabela 5). Foram utilizadas 12 repetições por tratamento, representada por um tubo de ensaio e um embrião.

O pH dos meios de cultura foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$, antes da adição do geleificante Phytigel™ (2,2 g. L⁻¹), conforme apresenta a Tabela 5 e posteriormente os meios foram autoclavados a 121°C em 1,3 atm de pressão por 20 minutos.

TABELA 5 – Descrição dos tratamentos utilizados no estudo de germinação de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei*, Rio Branco, Acre, 2014.

Tratamento	Meio de cultura	Concentração de sacarose (g.L ⁻¹)
1	MS	15
2	MS	30
3	MS	45
4	WPM	15
5	WPM	30
6	WPM	45
7	WHITE	15
8	WHITE	30
9	WHITE	45

MS: formulado por Murashige & Skoog (1962); WPM: Wood Plant Medium, formulado por Lloyd e Mccown (1980); WHITE: formulado por White (1943).

Após a transferência do embrião para os tratamentos, os tubos de ensaio foram fechados com duas camadas de filme transparente de PVC. Depois, os embriões foram mantidos por 28 dias em sala de cultivo *in vitro*, com 16 horas de fotoperíodo e temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$. Aos 21, 35 e 63 dias de cultivo *in vitro* foram avaliadas as seguintes variáveis respostas (características): porcentagem de germinação, comprimento da parte aérea (cm), tamanho do haustório (cm) e comprimento da raiz primária (cm).

Os dados foram analisados com o uso do programa de análises estatística Assistat 7.7 betas, e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4 Indução de calos para embriogênese somática de murmuru

A indução de calos foi realizada a partir de embrião zigótico (explante) proveniente de frutos maduros das matrizes 2 e 3 (Tabela 4). A desinfestação das amêndoas e obtenção do embrião zigótico foram realizados de acordo com a metodologia utilizada no item 3.3.

O cultivo *in vitro* foi realizado em frascos de vidro com capacidade de 250 mL, que continham 25 mL de meio de cultura e dois embriões, fechados com filme PVC. O meio de cultura utilizado para a indução de calos foi composto pelos

nutrientes minerais, vitaminas, aminoácido e mio-inositol da formulação original do meio MS, adicionado de sacarose (30,0 g. L⁻¹), L-glutamina (500 mg. L⁻¹) e 1,5 g. L⁻¹ de carvão ativado. Os tratamentos consistiram da adição ao meio de cultura de concentrações (0; 56,25; 112,5; 225,0; 450,0 µM) do regulador de crescimento Picloram, conforme Tabela 6.

Os meios de cultura tiveram o pH ajustado para 5,8±0,1 antes da adição do geleificante Phytigel™ (2,2 g. L⁻¹), e posteriormente autoclavados a 121°C em 1,3 atm de pressão por 15 minutos.

TABELA 6 – Descrição dos tratamentos utilizados para de indução de calos para embriogênese somática a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei*, Rio Branco, Acre, 2014.

Tratamento	Concentração de Picloram (µM)
1	0
2	56,25
3	112,5
4	225,0
5	450,0

A indução de calos foi realizada em sala de cultivo *in vitro* na ausência de fotoperíodo e temperatura de 25±2°C. Foram avaliadas a porcentagem de calos granulares e a caracterização qualitativa da formação dos calos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados os resultados e discussões referentes a caracterização dos diásporos, amêndoas e embrião zigótico, germinação *in vitro* e a indução de calos para embriogênese somática de Murmuru.

4.1 Caracterização dos diásporos, amêndoas e embrião zigótico de murmuru

Os resultados de caracterização são apresentados de forma geral (independente da matriz) e individualmente, por matriz (árvore), de murmuru (*Astrocaryum ulei*).

4.1.1 Caracterização dos diásporos e amêndoas de murmuru

Os resultados da caracterização dos diásporos, independentemente da matriz coletada no fragmento florestal primário, encontram-se descritos na Tabela 7. O diâmetro equatorial dos diásporos teve valor médio, máximo e mínimo de 23,17 mm, 27,62 e 17,04 mm, respectivamente, com coeficiente de variação de 9,03%. Dessa forma é possível afirmar que a média obtida se aproxima dos valores reais para diâmetro equatorial dos diásporos de murmuru.

Para a massa do diásporo a média foi de 9,38 g e o CV% expressou um valor de 22,05, que demonstra a variabilidade deste caractere de medição, indicada pela amplitude observada entre o valor de máximo (13,45 g) e mínimo (4,7 g). O comprimento, diâmetro dos pólos e espessura do endocarpo, os resultados apresentaram resultados inferiores aos observados, com valores médios de CV% (13,95, 14,55 e 14,58), cuja amplitude foi de 22,42 para o comprimento, 12,57 para diâmetro dos pólos e 1,47 para espessura do endocarpo.

Não existe na literatura caracterização para diásporos. Com frutos da mesma espécie e colhidos em Rio Branco (AC), Nascimento et al. (2007) obtiveram comprimento e diâmetro médio de 55,58 e 26,24 mm, máximo de 68,80 e 38,20, e mínimo de 54,7 e 18,50 mm, com CV% de 9,97 e 13,91, respectivamente. A diferença observada no presente estudo é justificada em razão de que os autores realizaram a caracterização do fruto inteiro, o qual inclui a casca (exocarpo), a polpa (mesocarpo) e o diásporo (endocarpo e amêndoa).

No trabalho desenvolvido por Santos-Moura (2013), com a espécie licuri (*Syagrus coronata* – Arecaceae), observou que a média do comprimento (30,22

mm) e diâmetro dos diásporos (22,18 mm) foram próximas aos valores correspondentes ao observados na presente pesquisa. Batista et al. (2011), salienta que o comprimento, diâmetro e massa dos diásporos são variáveis na família Arecaceae, no próprio gênero de *Astrocaryum* e ainda dentro da própria espécie, como foi observado na espécie estudada.

A caracterização de frutos e diásporos é de grande importância para detectar a variação genética dentro de populações de uma mesma espécie ou diferenciar espécies do mesmo gênero, pois são fontes de informações base para caracterizar aspectos ecológicos como o tipo de dispersão, agentes dispersores e ainda o estabelecimento de plântulas (GUSMÃO et al., 2006; MACEDO et al., 2009).

TABELA 7 – Parâmetros utilizados para análise dos caracteres de medição dos diásporos de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Parâmetros	CDD (mm)	DED (mm)	DPD (mm)	EED (mm)	MDD (g)
Média	37,23	23,17	19,68	2,27	9,38
Mediana	36,92	23,28	19,75	2,28	9,59
Mínimo	24,8	17,04	12,91	1,61	4,70
Máximo	47,22	27,62	25,48	3,08	13,45
Amplitude	22,42	10,58	12,57	1,47	8,75
Variância	26,98	4,38	8,21	0,11	4,27
Desvio Padrão	5,19	2,09	2,86	0,33	2,07
CV (%)	13,95	9,03	14,55	14,58	22,05

Notas: CDD: Comprimento do Diásporo; DED: Diâmetro Equatorial dos Diásporos; DPD: Diâmetro dos polos dos diásporos; EED: Espessura do Endocarpo dos Diásporos; MDD: Massa dos Diásporos; CV: Coeficiente de Variação.

A frequência relativa do comprimento do diásporo, diâmetro equatorial, diâmetro dos pólos, espessura do diásporo e massa dos diásporos encontram-se na Figura 9. Para o comprimento do diásporo constatou-se uma variação de 24,8 a 48,41 mm, entretanto, os valores mais frequentes foram encontrados em apenas uma classe 31,89 com porcentagem de 20%, entretanto, as classes 34,25; 38,97 e 41,33 registraram percentuais de 13,33 14,44 14,44 %, respectivamente, no total de 41% dos dados analisados. As demais classes

referentes a característica do comprimento dos diásporos foram inferiores a 10% (Figura 9-A).

Para o diâmetro equatorial dos diásporos foi verificado pela frequência relativa que não houve uma classe única que expressasse variação em relação as outras, na realidade observou-se uma homogeneidade desse caractere de medição, pois na amostra estudada ocorreram cinco classes (20,19; 21,50; 22,61; 23,73 e 24,85) com registros percentuais de 14 a 18%, no total de 83,5% (Figura 9-B).

O diâmetro dos pólos registrou uma frequência de classes distribuída, porém com concentrações em forma de parábola, cujos valores mais frequentes foram encontrados em cinco classes, que variaram de 16,88 a 22,18 mm, no qual correspondeu em um total de 74% dos dados amostrados (Figura 9-C).

O comprimento dos diásporos evidenciou uma distribuição semelhante ao caractere de medição de espessura do endocarpo, onde se observou uma distribuição desuniforme, em que apenas duas classes, 2,25 e 2,41 apresentam maiores concentrações, no total estas duas classes com aproximadamente 39%. Ainda que observado valores mais frequentes na classe (Figura 9-D).

Com relação a massa média dos diásporos, os valores mais frequentes foram obtidos nos intervalos de 6,54 a 7,47; 8,39 a 9,31 e 10,23 a 12,08, constatou-se que as quantidades mais frequentes totalizaram cerca de 65% (Figura 9-E).

Desta maneira, neste estudo foi realizado a análise da frequência relativa de classes que permite identificar a variabilidade referente as características biométricas observadas. É de suma importância que a frequência relativa deve apresentar números de classes bem distribuídos.

Santos-Moura (2013), afirma que com o agrupamento dos dados dos caracteres de medição analisados, foi possível demonstrar de forma visível as diferenças existentes entre o comprimento, diâmetro e peso, pois essas diferenças podem ser atribuídas à variabilidade genética existente entre as amostras escolhidas para coleta dos frutos.

De acordo com Gusmão et al., (2006) e Macedo et al., (2009), a descrição dos caracteres de medição é de suma importância para observação da variação genética dentro das populações de uma mesma espécie ou diferenciação de espécies do mesmo gênero.

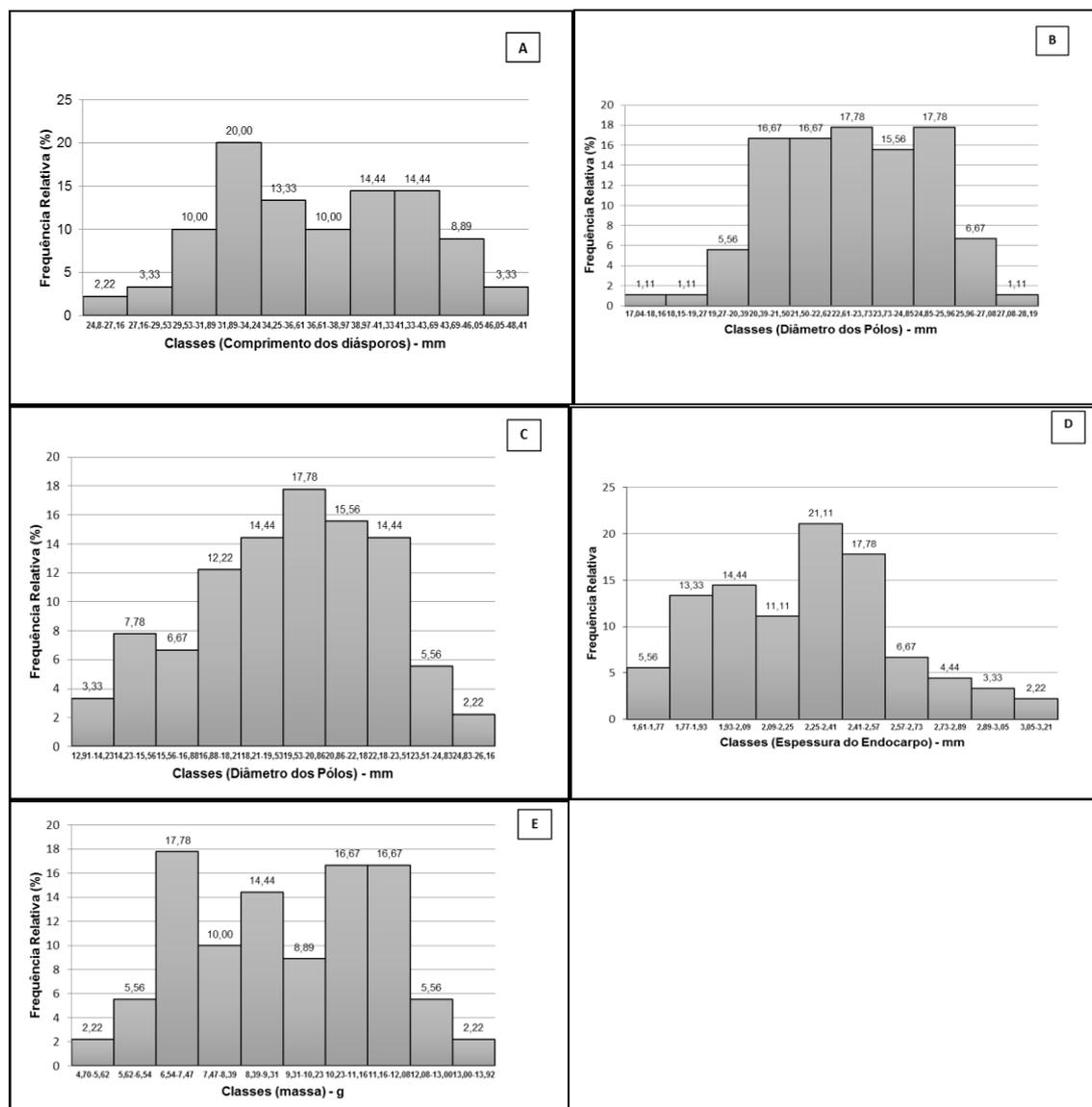


Figura 9 - Frequência Relativa do comprimento dos diásporos (A), diâmetro equatorial (B), diâmetro dos polos (C), diâmetro da espessura dos diásporos (D) e Massa dos diásporos (E).

Os resultados da caracterização individual das amêndoas e embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* são apresentados na Tabela 8. Os caracteres de medição do comprimento da amêndoa, diâmetro equatorial da amêndoa e comprimento do embrião encontram-se dentro da margem, com valores de CV% correspondem a 12,84, 12,39 e 12,79. Já os caracteres de medição, diâmetro dos pólos da amêndoa e massa da amêndoa apresentaram valores relativamente acima, com CV% de 18,21 e 20,36, demonstram uma variabilidade nos parâmetros observados, com médias de 15,11 e 3,82 g. Porém, o caracter de medição massa do embrião zigótico com média de 0,0032 g, valores máximo de

0,0230 e mínimo de 0,0003 apresentou CV% muito elevado (78,96), com característica de apresentar uma grande variabilidade conforme observados nos valores de máximo e de mínimo.

No trabalho de Nascimento et al., (2007) foi analisada a caracterização morfométrica do endocarpo, observando o peso do endosperma, equivalente ao embrião. Os autores observaram um CV% também bastante alto (72,7), com média de 2,59, com valores máximo de 8,27 e mínimo de 0,22 g, é possível de deduzir que esta é um caractere de medição que apresenta uma grande variabilidade.

Os caracteres de medição de diásporos, amêndoas e embriões zigóticos, inclusive, seus respectivos pesos, são bastante variáveis nas espécies da família Arecaceae, até mesmo no próprio gênero de *Astrocaryum* e ainda dentro da própria espécie como observado nos dados referentes a outras pesquisas. Para os diásporos de *Astrocaryum murumuru* L., Carim et al., (2009) identificaram que o comprimento médio de 54,20 mm, diâmetro equatorial médio de 30,03 mm e peso médio de 10,34 g, dados bem superiores aos encontrados no presente trabalho.

Para outras espécies de palmeiras, pelas caracteres de medição também foi possível identificar variação para os diásporos, a exemplo de *Phytelephas microcarpa* (DOMINGOS-NETO; FERREIRA, 2014), com peso médio variando 2,074 g, comprimento de 1,39 mm e diâmetro equatorial de 5,34 mm e a de *Syagrus vagans* (LOPES, 2007), com peso médio variando de 6 a 8 g, comprimento de 2,52 mm e diâmetro de 1,34 mm.

TABELA 8 – Parâmetros utilizados para análise dos caracteres de medição das amêndoas de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Parâmetros	CDA (mm)	DEA (mm)	DPA (mm)	CEZ (mm)	MDA (g)	MEZ (g)
Média	25,76	18,17	15,11	3,12	3,82	0,0032
Mediana	26,32	18,26	15,24	3,18	3,83	0,0029
Mínimo	18,09	13,32	9,71	2,05	1,96	0,0003
Máximo	34,55	22,71	21,22	3,89	5,32	0,0230
Amplitude	16,46	9,39	11,51	1,84	3,36	0,0227
Variância	10,94	5,07	7,57	0,16	0,61	0,0227
Desvio Padrão	3,31	2,25	2,75	0,40	0,78	0,0025
CV (%)	12,84	12,39	18,21	12,79	20,36	78,96

Notas: CDD: Comprimento da Amêndoa; DED: Diâmetro Equatorial da Amêndoa; DPA: Diâmetro dos polos da Amêndoa; CEZ: Comprimento do Embrião Zigótico; MDA: Massa da Amêndoa; MEZ: Massa do Embrião Zigótico; CV: Coeficiente de Variação.

Na Figura 10 são apresentados os dados de medição da frequência relativa relacionados aos caracteres da parte interna da semente: amêndoa e embrião dos frutos de *Astrocaryum ulei*. Na figura 10 – A, B, C e D, são apresentados os dados de medição referentes a amêndoa dos frutos de *Astrocaryum ulei*, onde observa-se que referente ao comprimento, diâmetro equatorial, diâmetro dos pólos e massa dos mesmos variaram de 18,09 a 35,49 mm, de 13,32 a 23,22 mm, de 9,71 a 23,44 e de 18,09 a 35,49 g, respectivamente. A maior parte das amêndoas apresentaram comprimento variando entre as classes de 26,79 a 28,53 mm, com aproximadamente 24,44%, porém cerca de 43,32% das amêndoas ficaram distribuídas de forma equivalente em apenas três classes, com variação de 21,57 a 26,79 mm (Figura 10-A). Porém, os valores obtidos da massa da amêndoa foram próximos as amêndoas de Macaúba, da qual pertence a família Arecaceae, com variação de 20,3 a 50,3 mm (SANTOS et al., 2013). Esses resultados indicam que as amêndoas de *Astrocaryum ulei* desse estudo são menores que as amêndoas de *Astrocaryum ulei*, encontrada na região de Porto Acre, Acre, cujo comprimento varia de 38,20 a 68,80 mm (NASCIMENTO et al., 2007).

Com relação à frequência relativa do diâmetro equatorial e dos pólos das amêndoas, observa-se que a maior parte está distribuída na parte central do gráfico, com diâmetros que variam de 15,3 a 21,24 mm e percentual total de aproximadamente 78% para diâmetro equatorial e de 12,14 a 19,40 mm e percentual total com aproximadamente de 88% para diâmetro dos pólos (Figura

10 – B e C). Valores distintos foram registrados por Nascimento et al., (2007), quando realizaram a análise do comprimento da semente de murmuru na região de Porto Acre, com variação de 18,50 a 54,80 mm, o que permite observar que, esses dados são superiores aos analisados neste estudo, em razão de que os autores realizaram a mensuração do diâmetro equatorial e leva em consideração o endocarpo e o endosperma simultaneamente, diferentemente aos realizados, que a metodologia partiu da escolha da mensuração apenas da amêndoa.

Na figura 10 (A, B e C) é necessário destacar que não há grande variação do comprimento e diâmetros das amêndoas de murmuru, independente da sua posição no cacho. No entanto, Mendonça et al., (2011) relatam que encontraram sementes de palmeira de babaçu, com comprimentos e diâmetros superiores, e que isso pode acontecer em função da época de colheita das sementes em campo. Já Pinheiro et al., (2014) afirmam que as sementes submetidas a caracterização de medição podem apresentar variação de suas características morfológicas de acordo com a posição em que os frutos foram coletados no cacho.

Na figura 10 – D são apresentados os dados de medição da massa da amêndoa de *Astrocaryum ulei*. A maior parte das amêndoas apresentam massa em torno de 21,57 a 30,27 g, com total de de 80%. Os resultados foram semelhantes aos registrados por Carim et al., (2009), em *Astrocaryum murumuru* L.), em floresta de várzea no município de Mazagão, Amapá, onde os resultados referentes a massa média das sementes foi de 23,18 g. Para os estudos com o *Astrocaryum ulei* no município de Porto Acre, Acre, observou que os valores correspondentes a massa da amêndoa foram inferiores, com média de 4,64 g, onde é afirmado que o peso da amêndoa está altamente correlacionada com o diâmetro e o peso do endocarpo (NASCIMENTO et al., 2007).

De acordo com Sangalli (2008), as variações nas dimensões do peso das sementes dos frutos podem ser promovidas tanto por fatores ambientais durante o florescimento e o desenvolvimento, como também pode representar um indício de alta variabilidade genética populacional. Assim, sugere-se que a relativa uniformidade das dimensões do peso das sementes sejam caracteres determinados geneticamente para as espécies (OLIVEIRA et al., 2000).

Para o comprimento do embrião constatou-se uma variação de 2,05 a 3,95 mm, em que os valores se encontravam bastante distribuídos e forma

desuniforme entre as classes, houve uma maior concentração do comprimento dos embriões em apenas duas classes, que varia de 3,00 a 3,38 mm, com o total de aproximadamente 43% dos dados analisados (Figura 10 – E).

A massa do embrião zigótico registrou uma frequência de classes distribuída de forma diferenciada, cujos valores mais frequentes foram encontrados predominantemente em duas classes, da qual variavam de 0,0003 a 0,0051 g e correspondiam em um total de aproximadamente 95% dos dados amostrados em apenas estas duas classes (Figura 10-F).

Neves et al., (2010), na morfologia da semente e na caracterização de medição do embrião de babaçu – *Orbignya oleífera* Burret (Arecaceae), comparou o comprimento dos embriões com os de *Astrocaryum ulei*, os embriões *O. oleífera* são maiores que os padrões médios observados, com média de 9,4 mm e variavam de 12,30 a 6,9 mm, de comprimento e média de 0,00935, de 0,0060 a 0,01230 de massa do embrião. Ainda, nos estudos morfo-anatômicos do fruto e semente de *Oenocarpus minor* Mart. (Arecaceae), o embrião mede em média 9 mm de comprimento, com variação de 8 a 12 mm (MENDONÇA et al., 2008).

Neves et al., (2010), afirmam que as sementes de palmeiras contêm embriões pequenos em relação ao tamanho e peso da semente e uma grande quantidade de endosperma. Diante disso, a descrição dos caracteres de medição em relação aos embriões das palmeiras serve de subsídio para distinção das regiões do embrião, bem como revela caracteres estruturais que contribuem na identificação da espécie e fornece dados para posteriores estudos fenológicos e reprodutivos (MENDONÇA et al., 2008).

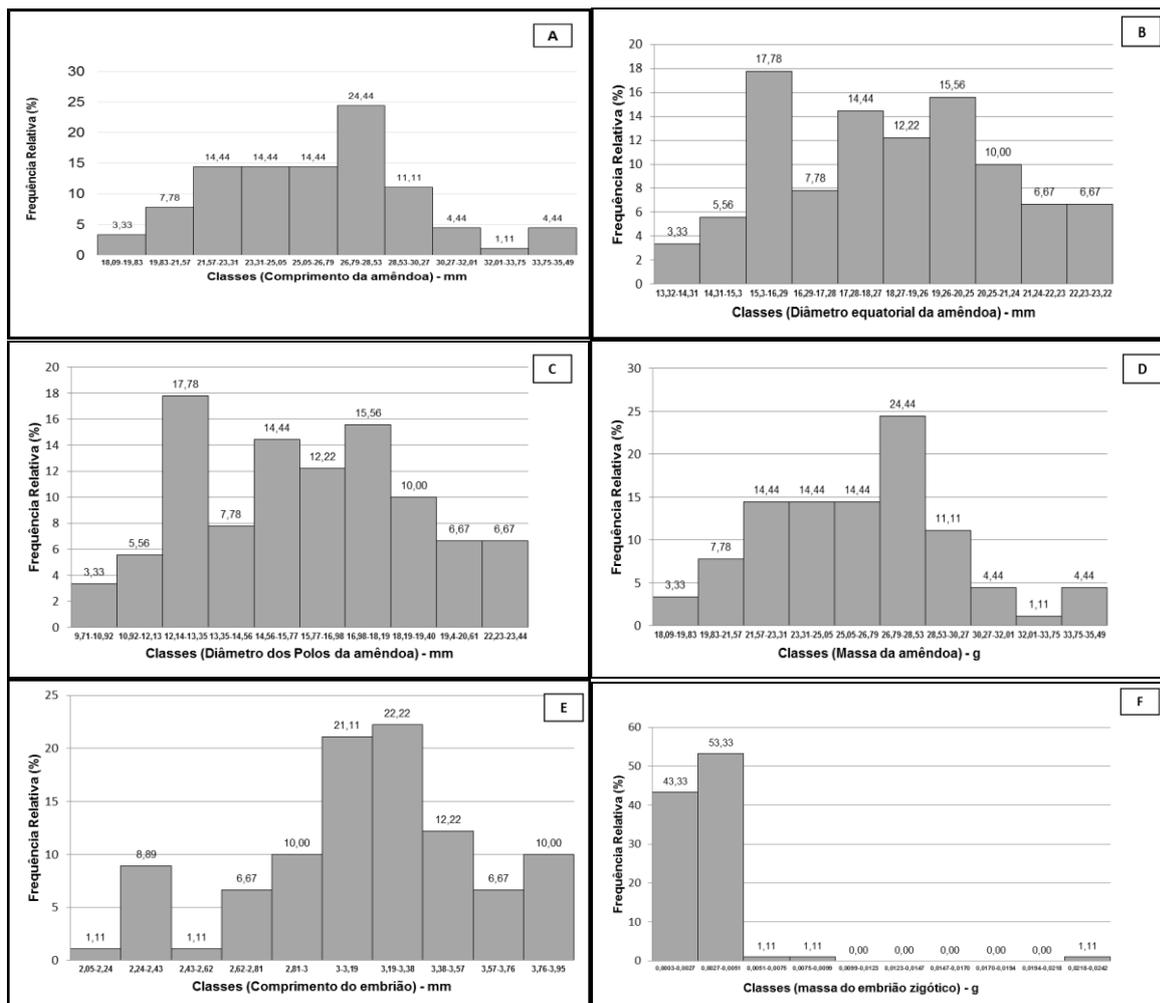


Figura 10: Frequência Relativa do comprimento da amêndoa (A), diâmetro equatorial da amêndoa (B), diâmetro dos polos da amêndoa (C), massa da amêndoa (D), comprimento do embrião (E) e massa do embrião zigótico (F).

4.1.2 Caracterização dos diásporos, amêndoas e embrião zigótico de cada matriz

A caracterização dos diásporos e amêndoas de cada planta matriz de murmuru encontram-se descrita na Tabela 9.

A matriz 2 apresentou as características com maiores proporções, exceto as características CDA, DPA e CEZ, em que estes resultados foram intermediários entre as três matrizes. As médias das características dos diásporos analisados da amostra 2 foram superiores comparadas as da amostra 1, o comprimento (40,87 mm; 32,75 mm), diâmetro equatorial (25,09 mm; 23,23 mm), diâmetro dos pólos (21,27 mm; 20,83 mm), espessura do endocarpo (2,42 mm;

2,41 mm) e massa do diásporo (11,6 g; 9,45 g), respectivamente. Faz deduzir que quanto mais distantes uma amostra da outra, as diferenças entre as características do diásporo também são perceptíveis. Essas características de observação podem variar muito dependendo das condições do ecossistema (BARBOSA et al., 2010).

Em relação as características de medição relacionadas a amêndoa, nota-se ainda a superioridade das médias correspondentes ao comprimento (25,85 mm), diâmetro equatorial (20,09 mm) e massa da amêndoa (4,54 g) da amostra 2 quando comparadas com as médias da amostra 1 (23,30 mm; 18,41 mm e 3,96 g). Porém ainda referente as amêndoas, os valores de média do diâmetro dos pólos das amêndoas da amostra 2 (16,53 mm) são próximos as da amostra 1 (16,76 mm).

Os resultados das médias dos diásporos e amêndoas da amostra 2 apresentaram-se com características mais superiores, como relatado anteriormente e ainda os seus valores foram homogêneos, em razão de que para estas médias, os coeficientes de variação foram os menores entre as amostras. Nos estudos de Nascimento et al., (2007), realizado com *Astrocaryum ulei*, foi observado que o maior coeficiente de variação em sua avaliação dos caracteres de medição foi com as sementes úmidas.

De acordo com Domingos-Neto e Ferreira (2014), afirmam que quando os frutos e sementes apresentam este padrão, sugere-se que as amostras onde foram extraídos os frutos devem ser mais velhas do que as de outras localidades.

Diante disso, para as três amostras as características relacionadas aos diásporos e amêndoas foram variáveis e são independente da forma principal que consta na literatura. Ruiz et al., (2001) comentam que para as espécies de palmeiras, geralmente os frutos e sementes dos indivíduos de uma espécie apresentam diferentes morfotipos presentes em uma mesma localidade.

Também é importante salientar que estes resultados exaltam a diferença entre as médias das amostras, da qual aceita a alternativa de variabilidade morfométrica entre os diásporos e amêndoas. Porém embora estes resultados indiquem que exista uma variabilidade morfométrica, os resultados apresentados são compatíveis com outras espécies da mesma família e do mesmo gênero, como comentado anteriormente e dentro dos limites métricos comparáveis a outras regiões da Amazônia (BARBOSA et al., 2010).

Hamrick et al., (1992) relata inúmeras razões que influenciam o nível de diversidade genética nas plantas, entre elas estão a reprodução e a distribuição geográfica, onde esta última desempenha importante papel na variação genética entre e dentro das populações. A diferenciação genética dentro de uma população ou até mesmo entre as populações de uma espécie pode ocorrer a distância relativamente pequenas (LINHART et al., 1981).

Os resultados da caracterização das três amostras de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* são apresentados também na tabela 9. Em relação ao comprimento e massa dos embriões zigóticos as médias da amostra 3 foram as menores, 2,87 mm e 0,0023 g, seguida pelas médias das outras duas amostras em que seus valores foram próximos, amostra 1 (3,35 mm e 0,0033) e amostra 2 (3,16 mm e 0,0040).

Como citado anteriormente nos trabalhos de Oliveira et al., (2008), o embrião de *Oenocarpus minor* Mart. apresenta média de 9 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro, médias superiores aos resultados apresentados. Já o embrião de *Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc, as médias dessa palmeira são similares a de *Astrocaryum ulei*, com comprimento de 2,76 mm (BATISTA et al., 2011). Com isso, Santos-Moura (2013) afirma que a forma e o tamanho do embrião são bastante variados nas sementes de palmeiras.

TABELA 9 – Caracterização do diásporo, amêndoa e embrião zigótico de cada matriz de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Variável	Matriz	Média	Mediana	Mín.	Máx.	Amp.	Var.	D.P	CV (%)
CDD (mm)	1	32,75	33,17	26,91	39,46	12,55	8,16	2,86	8,72
	2	40,87	41,96	29,64	47,22	17,58	21,38	4,62	11,31
	3	37,78	39,01	24,80	44,99	20,19	20,26	4,50	11,91
DED (mm)	1	23,23	23,33	19,53	26,30	6,77	2,23	1,49	6,43
	2	25,09	25,27	21,82	27,62	5,8	1,62	1,27	5,07
	3	21,21	21,13	17,04	23,62	6,58	1,69	1,30	6,13
DPD (mm)	1	20,83	20,77	15,97	24,97	9,0	5,02	2,24	10,76
	2	21,27	21,43	17,67	25,48	7,81	3,79	1,95	9,15
	3	16,98	17,09	12,91	20,29	7,38	4,60	2,14	12,63
EED (mm)	1	2,41	2,39	1,60	3,98	2,38	0,23	0,48	19,77
	2	2,42	2,35	1,60	3,98	2,38	0,18	0,41	17,32
	3	2,00	1,89	1,60	3,98	2,38	0,18	0,42	20,93
MDD (g)	1	9,45	9,44	5,84	12,15	6,31	1,52	1,23	13,02
	2	11,6	11,6	9,75	13,45	3,7	0,86	0,93	8,07
	3	7,14	7,15	4,70	8,90	4,20	0,79	0,89	12,48
CDA (mm)	1	23,30	23,28	18,82	28,64	9,82	4,76	2,18	9,36
	2	25,85	26,77	19,25	29,05	9,80	6,93	2,63	10,18
	3	27,89	28,14	18,09	34,55	16,46	10,89	3,30	11,83
DEA (mm)	1	18,41	18,53	15,20	22,0	6,80	3,48	1,87	10,13
	2	20,09	20,17	17,43	22,71	5,28	1,84	1,36	6,75
	3	16,04	16,02	13,32	18,65	5,33	1,52	1,23	7,68

DPA (mm)	1	16,76	16,22	12,75	21,22	8,47	3,98	1,99	11,91
	2	16,53	16,4	13,61	20,8	7,19	3,25	1,80	10,91
	3	12,48	12,18	9,71	15,88	6,17	3,72	1,93	15,46
CEZ (mm)	1	3,35	3,42	2,39	3,82	1,43	0,11	0,33	9,73
	2	3,16	3,19	2,05	3,89	1,84	0,15	0,39	12,28
	3	2,87	2,91	2,30	3,38	1,08	0,11	0,33	11,61
MDA (g)	1	3,96	3,85	3,22	5,21	1,99	0,22	0,47	11,90
	2	4,54	4,62	3,85	5,32	1,67	0,16	0,40	8,80
	3	2,97	2,90	1,96	3,82	1,86	0,15	0,39	13,10
MEZ (g)	1	0,0033	0,0036	0,0003	0,0054	0,0051	0,0018	0,0014	41,24
	2	0,0040	0,0035	0,0019	0,0230	0,0211	0,0133	0,0004	91,79
	3	0,0023	0,0021	0,0011	0,0097	0,0086	0,0000	0,0015	65,09

Notas: CDD: Comprimento do Diásporo; DED: Diâmetro Equatorial dos Diásporos; DPD: Diâmetro dos polos dos diásporos; EED: Espessura do Endocarpo dos Diásporos; MDD: Massa dos Diásporos; CDA: Comprimento da Amêndoa; DED: Diâmetro Equatorial da Amêndoa; DPA: Diâmetro dos polos da Amêndoa; CEZ: Comprimento do Embrião Zigótico; MDA: Massa da Amêndoa; MEZ: Massa do Embrião Zigótico; Mín.: Mínimo; Max.: Máximo; Amp.: Amplitude; Var.: Variância; DP: Desvio Padrão; CV: Coeficiente de Variação.

Todas as características avaliadas nos diásporos tiveram diferenças significativas entre as matrizes (Tabela 10). O comprimento médio do diásporo foi maior na matriz 2, seguido das matrizes 3 e 1 ($p < 0,05$). Para o diâmetro equatorial e a massa do diásporo a matriz 2 e 3 apresentaram médias significativamente maiores e menores, respectivamente. Quanto ao diâmetro dos polos e a espessura do endocarpo, as matrizes 1 e 2 não diferiram significativamente, mas tiveram maiores médias comparadas a matriz 3 ($p < 0,05$). Estes resultados evidenciam a possível variabilidade entre as matrizes de *Astrocaryum ulei*.

Estudo realizado por Ribeiro et al., (2014), com a caracterização de frutos de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) no município de Capitão Poço, apresentou diferença entre os indivíduos coletados, não apenas nos caracteres utilizados, mas também na produção das plantas.

Segundo Nascimento (2007) em um trabalho realizado com parâmetros de medição de cachos, frutos e sementes da palmeira de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* g. Meyer), no estado do Acre, foram encontrados valores aproximados de médias do fruto de tucumã.

TABELA 10 – Comparação de médias das características dos diásporos entre as matrizes de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Matriz	CDD (mm)	DED (mm)	DPD (mm)	EED (mm)	MDD (g)
1	46,43c	31,83b	28,23a	2,64a	9,45b
2	59,27a	34,63a	28,89a	2,65a	11,50a
3	54,37b	28,79c	22,56b	2,15b	7,14c

Notas: As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CDD: Comprimento do Diásporo; DED: Diâmetro Equatorial dos Diásporos; DPD: Diâmetro dos polos dos diásporos; EED: Espessura do Endocarpo dos Diásporos; MDD: Massa do diásporo.

De acordo com os valores de média das características de medição das amêndoas e embriões, descritas na Tabela 11, observa-se que a amostra 2 ainda apresenta os maiores valores em relação às outras amostras, os resultados em relação ao comprimento do embrião zigótico não diferiram estatisticamente, este resultado implica que as médias do comprimento dos embriões entre os indivíduos de murmuru se aproximam, não houve diferença expressiva. Porém os valores das outras características de medição relacionadas as amêndoas se distinguem estatisticamente, com variação entre as médias.

Geralmente nos frutos de murmuru observou-se que existe uma variação entre as suas sementes, apresentou diferentes tamanhos e formas na posição do cacho. Nas pesquisas Mitja et al., (2008) sobre aos caracteres de medição dos frutos e sementes de babaçu, no estado do Tocantins, mencionam que os frutos e sementes de palmeiras, geralmente são separados em grandes e pequenos, pois os frutos grandes têm sementes com medidas e pesos maiores do que as do fruto pequeno, do qual corroborou com os resultados obtidos no presente trabalho.

Para Sangalli (2008), os fatores ambientais durante o florescimento e o desenvolvimento promovem diversas variações nas dimensões e no peso, estes fatores representam um indício de alta variabilidade genética populacional.

TABELA 11 – Comparação de médias das características das amêndoas e embrião zigótico entre as matrizes de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Matriz	CDA (mm)	DEA (mm)	DPA (mm)	MDA (g)	CEZ (mm)	MEZ (g)
1	20,97b	22,18b	16,30b	4,24b	3,28a	0,0016ab
2	25,85a	27,13a	21,90a	5,28a	3,55a	0,0024a
3	27,89a	21,18b	16,09b	3,32c	3,08a	0,0013b

Notas: As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CDA: Comprimento da Amêndoa; DEA: Diâmetro Equatorial da Amêndoa; DPA: Diâmetro dos polos da Amêndoa; CEZ: Comprimento do embrião zigótico; MEZ: Massa do embrião zigótico.

Nota-se que estes resultados não apresentam variações significativas em suas características de medição, exceto na massa do embrião. Diante disso, os dados amostrados não apresentaram variações significativas em suas características de medição. Porém para a massa do embrião zigótico (MDE), constatou-se ausência de aderência à distribuição normal dos valores (0,2604). Este resultado indica que possivelmente é necessário a realização de estudos adicionais com amostras mais amplas e de diferentes espécies.

Oliveira et al., (2009) afirmam que a não aderência das características à distribuição normal e as variações das características das sementes estão relacionadas à variabilidade genética. Por outro lado, a variação das características de medição das sementes deve influenciar a capacidade germinativa e estar relacionada aos problemas reprodutivos da espécie (VIEIRA et al., 2008).

4.2 Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru

O embrião zigótico de *Astrocaryum ulei* encontra-se localizado na porção terminal do saco embrionário junto à micrópila e está inserido no endosperma. Morfologicamente o embrião possui uma região cilíndrica que corresponde ao pecíolo cotiledonar, uma região proximal e outra distal afilada (Figura 11 - A).

Na primeira semana de cultivo, observou-se acentuado intumescimento dos embriões na região que determina a posição da emissão do pecíolo cotiledonar, correspondente ao eixo embrionário, seguido de dilatação da

extremidade proximal e distal do embrião, e curvatura da região do mesocótilo (Figura 11 – B).

Os resultados verificados no presente estudo corroboram aos obtidos no cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de dendezeiro (*Elaeis guineenses*) (BALZON, 2008) e *Mauritia flexuosa* (EBERT et al, 2014), aos sete dias de cultivo. Para embriões zigóticos de açaí (*Euterpe oleracea*) o início do processo germinativo ocorreu aos dez dias (MIKOVSKI et al., 2015). O início da germinação está relacionado ao processo de embebição e ativação do metabolismo celular, conforme observado por Spera et al., (2001) e Costa et al., (2006).

Após o intumescimento, Aguiar e Mendonça (2002), afirmam que se inicia um alongamento, comumente a segunda alteração morfológica verificada no processo germinativo em palmeiras, porém este alongamento pode ser demasiado e provocar assim a curvatura da região denominada como mesocótilo, como observado nos embriões de murmuru.

A emissão e desenvolvimento da radícula e, mais tardiamente da plúmula, bem como o início da formação do haustório, ocorreram após os vinte e um dias de cultura *in vitro*, conforme demonstrado na Figura 11 – C. Resultados semelhantes foram obtidos com o açaí e o dendê, onde os pontos de crescimento radicular e plumular desenvolveram-se a partir de 20 e 21 dias, respectivamente (MIKOVSKI et al., 2015; BALZON, 2008).

A plúmula é uma estrutura composta por células indiferenciadas, formada por uma protoderme externa e interna, inserida no interior da cavidade cotiledonar (OLIVEIRA et al., 2008).

Melo (2000) determina que a emissão da raiz primária é uma característica determinante no processo de germinação de embriões zigóticos de palmeiras, conforme observados no estudo com *Washingtonia filifera* (DEMASON, 1988), *Euterpe precatória* (AGUIAR; MENDONÇA, 2002) e *Phoenix roebelenii* (IOSSI et al., 2006).

Após vinte e oito dias do estabelecimento *in vitro*, observou-se o desenvolvimento da primeira bainha foliar, formação do haustório e em alguns embriões ocorrência de oxidação. O início da formação da bainha plumular de embriões de *Euterpe oleracea* deu-se a partir dos dez dias do cultivo (MIKOVSKI et al., 2015). Vários fatores, como a maturidade do embrião, o meio de cultura e

as condições do ambiente de cultivo podem estar envolvidos no período de emissão da bainha foliar, por isso as diferenças entre os estudos.

Ao estudar a germinação *in vitro* de embriões zigóticos de coquinho-azedo Ribeiro et al. (2011) afirmam que, ao contrário da presença de sacarose no meio de cultivo, o fotoperíodo não influencia na emissão de bainhas foliares, o que os autores relacionaram à falta de reservas de carboidratos suficientes para a germinação.

Em relação ao haustório, essa estrutura apresentou crescimento irregular em função do embrião zigótico, alguns com maior crescimento e outros sem formação de haustório. Em pupunha foi observado que algumas plantas foram formadas sem o desenvolvimento do haustório, inferindo que esta estrutura pode não ser essencial ao desenvolvimento *in vitro* (STEINMACHER, 2005).

No trabalho de Lédo et al. (2007), com o cultivo *in vitro* de embriões de coqueiro-anão, a completa germinação ocorreu aos dois meses.

De acordo com Verdeil e Hoche (2003), o haustório é uma estrutura cotiledonar, geralmente encontrada em palmeiras e com função de secreção de enzimas para o endosperma e redirecionamento das reservas para as atividades metabólicas e crescimento das plântulas.

A ocorrência de oxidação no cultivo *in vitro* de espécies de palmeiras é relatada e pode ser decorrente da liberação de compostos fenólicos no meio de cultura (BLAKE, 1983). Estudos indicam que o carvão ativado tem a capacidade em adsorver tais compostos (PAN; STANDEN, 1998).

Sharma et al. (1980) ao avaliar o cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de tamareira não observaram oxidação, sendo o embrião o único explante, dentre os utilizados, que tiveram essa resposta.

Aos 35 dias não foi notada nenhuma modificação dos eventos morfológicos do processo germinativo comparado aos 28 dias. Aos 42 dias de cultivo, observou-se a formação da segunda bainha foliar e regiões proximal e distal clorofiladas. No cultivo de embriões zigóticos de *Euterpe oleracea*, o desenvolvimento da segunda bainha ocorreu a partir dos 30 dias de avaliação (MIKOVSKI, 2015). No que concerne a presença de clorofila, provavelmente os explantes submetidos a luz, apresentavam atividade fotossintética ativa e culminou em diferenciar algumas regiões com clorofila, uma vez que a síntese de clorofila é dependente de luz (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Nenhuma alteração morfológica foi observada aos 49 e 56 dias, diferentemente dos 63 dias, em que verificou-se a presença do eófilo (Figura 11 – D) e maior crescimento das estruturas.

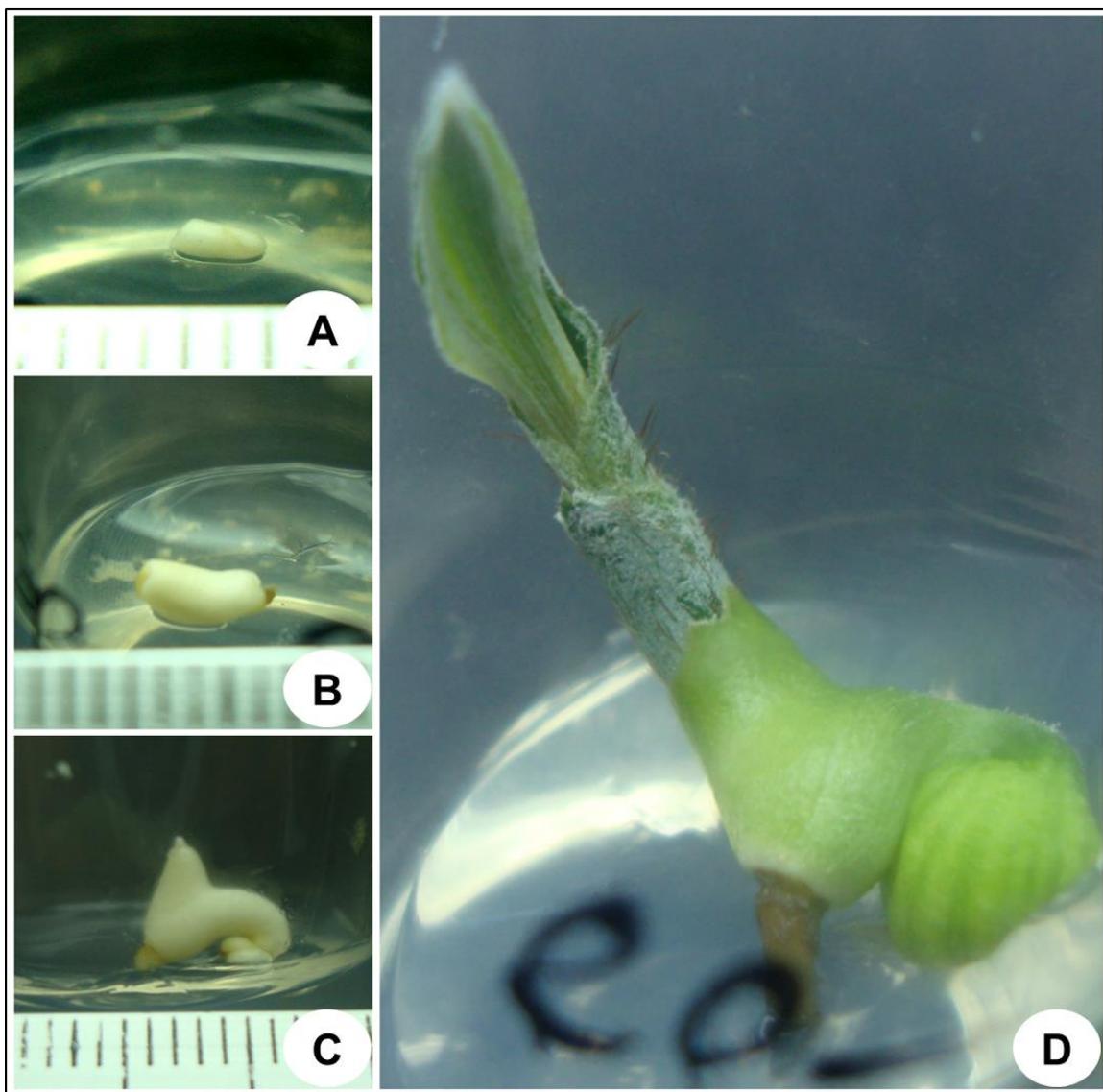


Figura 11: Morfogênese in vitro de embriões zigóticos de *Astrocarum ulei* Burret. Aspecto do embrião zigótico (A), Dilatação da região distal e proximal (B), Emissão da raiz primária, curvatura do mesocótilo, emissão da bainha primária e início da formação do haustório (C), Desenvolvimento das bainhas foliares e detalhe do haustório e raiz primária com 63 dias de cultivo (D), em Rio Branco, Acre, 2014.

Ledo et al. (2007) afirma que a germinação de embriões de coqueiro-anão ocorre aos 60 dias. Já Mikovski (2015) observou o desenvolvimento do eófilo a partir dos 90 dias de cultivo. Para Balzon (2008) e Steinmacher (2005) a obtenção de plantas completas de dendê e de pupunha é observada aos 90 dias.

Com relação aos tratamentos aplicados aos embriões, houve efeito significativo do meio de cultura na formação da raiz primária e do haustório, bem como na emissão das bainhas foliares e emissão do eófilo (Figura 12). Aos 21 dias, embriões cultivados em meio MS tiveram melhor formação, com emissão e alongamento da raiz primária, formação do haustório e início da formação da plúmula (Figura 12 – A). Nos meios WPM e White (Figura 12 – D e G) os embriões apresentaram retardo na germinação e/ou emissão das suas estruturas, principalmente embriões cultivados em meio White (Figura 12 – G).

A partir dos 35 dias, os melhores resultados ainda foram verificados no meio MS, seguido do WPM (Figura 12 – B e E). O meio MS promoveu ainda a formação da primeira bainha foliar e do haustório. Aos 63 dias de avaliação, observou-se a presença de eófilo tanto no meio MS quanto no meio WPM, enquanto o cultivo em meio White apresentou as estruturas de forma reduzida ou anormal (Figura 12 – C, F e I). Oxidação também foi verificada em embriões cultivados em meio White, possivelmente como uma condição de estresse in vitro.

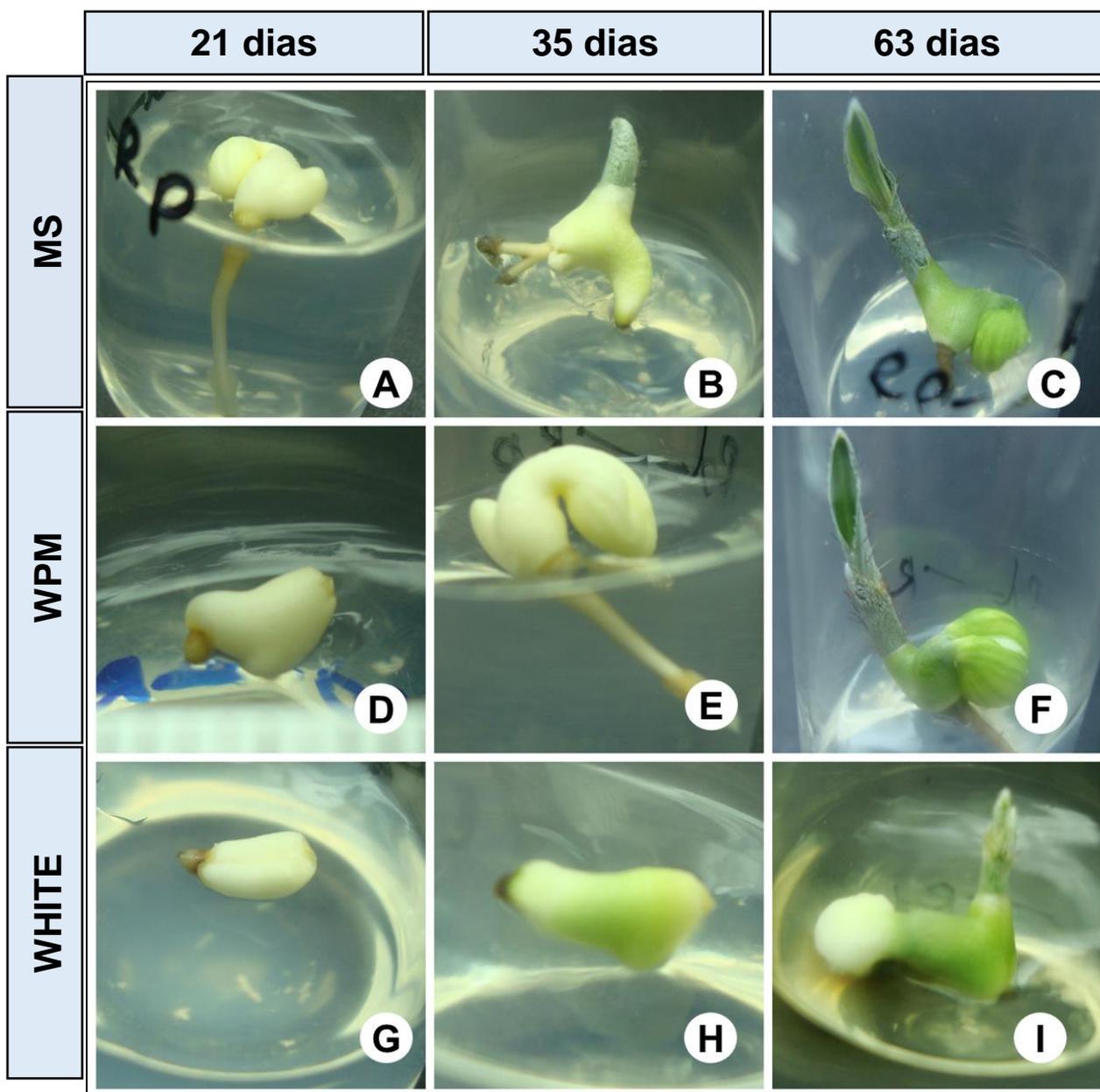


Figura 12: Germinação e formação de plantas a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret em função do meio de cultura e período de cultivo (21, 35 e 63 dias). Meio MS (A, B e C), WPM (D, E e F) e White (G, H e I), em Rio Branco, Acre, 2014.

Maior porcentagem de germinação e formação de plantas ocorreu no meio MS (61,11%) e WPM (47,22%), aos 63 dias de cultivo. Embriões cultivados em meio White tiveram 38,89% (Figura 13). A média observada corrobora os resultados obtidos no cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de macaúba, que apresentaram germinação de 60,6% (SOARES et al., 2011).

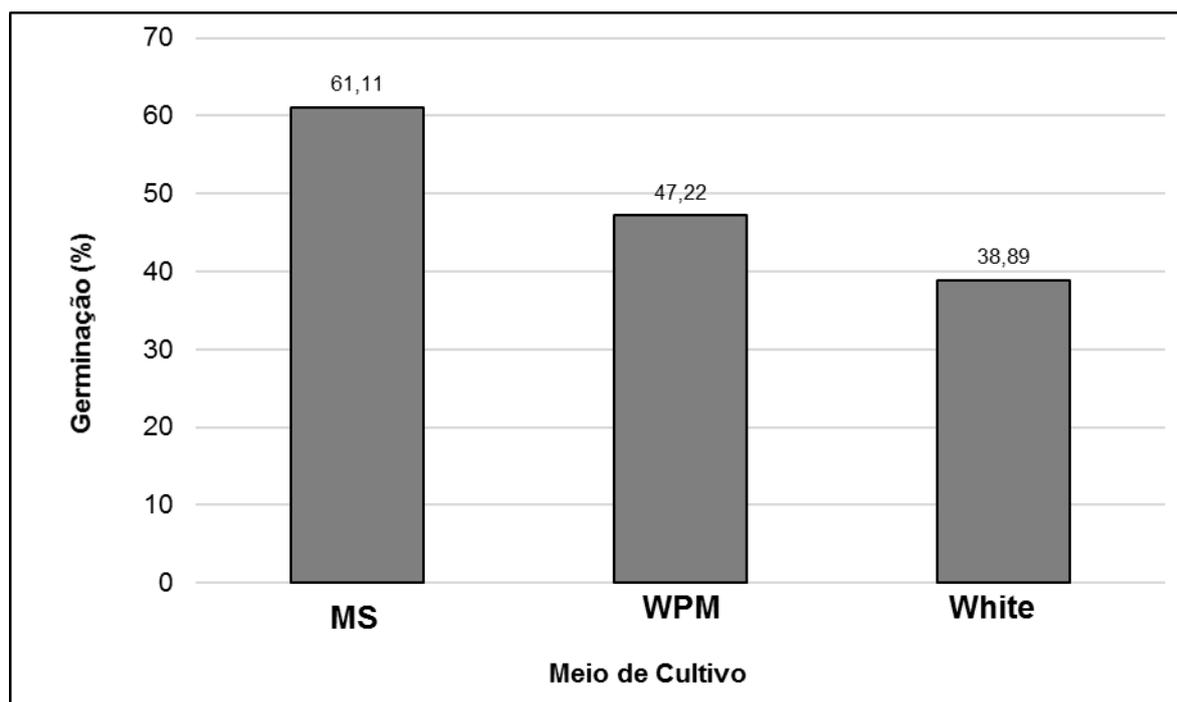


Figura 13: Germinação de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret em função do meio de cultura, aos 63 dias de cultivo, Rio Branco, Acre, 2014.

A germinação média obtida está em concordância aos resultados observados para embriões extraídos de frutos imaturos e maduros de murmuru cultivados em meio MS, com os valores de 68,8 e 40,6% respectivamente (PEREIRA et al., 2005). A composição do meio de cultura, a espécie e o estágio de maturação do embrião exercem influencia na morfogênese in vitro. O meio MS, proposto por Murashige e Skoog, possui elevada concentração de nitrogênio, Nitrato de Amônio (1.650 mg. L^{-1}) e Nitrato de Potássio (1.900 mg. L^{-1}), além de Cloreto de Cálcio dihidratado (440 mg. L^{-1}), conforme apresenta o apêndice A. Já o meio WPM, embora não contenha Nitrato de Potássio (1.900 mg. L^{-1}), apresenta Nitrato de Cálcio ($556,00 \text{ mg. L}^{-1}$) e reduzida concentração de Nitrato de Amônio (400 mg. L^{-1}) e Cloreto de Cálcio (96 mg. L^{-1}).

A menor porcentagem de germinação e formação de plantas verificada no meio White pode estar relacionada a ausência e às menores concentrações de alguns nutrientes minerais. Esse fato demonstra a exigência dos embriões zigóticos pelos nutrientes e suas concentrações presentes no meio MS e WPM. A formulação proposta por White (1943) não contém Nitrato de Amônio, Cloreto de

Cálcio, Fosfato de Potássio, Ferro e vitaminas, além de apresentar menor concentração de Nitrato de Potássio (80 mg. L^{-1}) (Apêndice A).

Os meios de cultura que apresentam Nitrato de Amônio e Nitrato de Potássio podem ser mais eficientes no cultivo in vitro, pois possuem uma relação mais efetiva do amônio:nitrato e nitrato:potássio, corroborando afirmações de Gamborg (1970).

Kauth et al. (2006) afirmam que em *Calopogon tuberosus* os meios de cultura que apresentavam uma melhor relação nitrato:amônio são mais eficientes para germinação. A decisão do meio de cultura é decisiva para haver uma maior porcentagem de germinação (SUZUKI et al., 2009).

A concentração de sacarose teve influencia na germinação dos embriões. A maior germinação foi observada com 30 g. L^{-1} de sacarose, independente do meio de cultura, o que demonstra a necessidade de carboidrato e que sua redução ou aumento pode reduzir a germinação dos embriões maduros. Os percentuais variaram de 16,67 a 83,33% para as diferentes concentrações de sacarose nos meios de cultura utilizados (Figura 14).

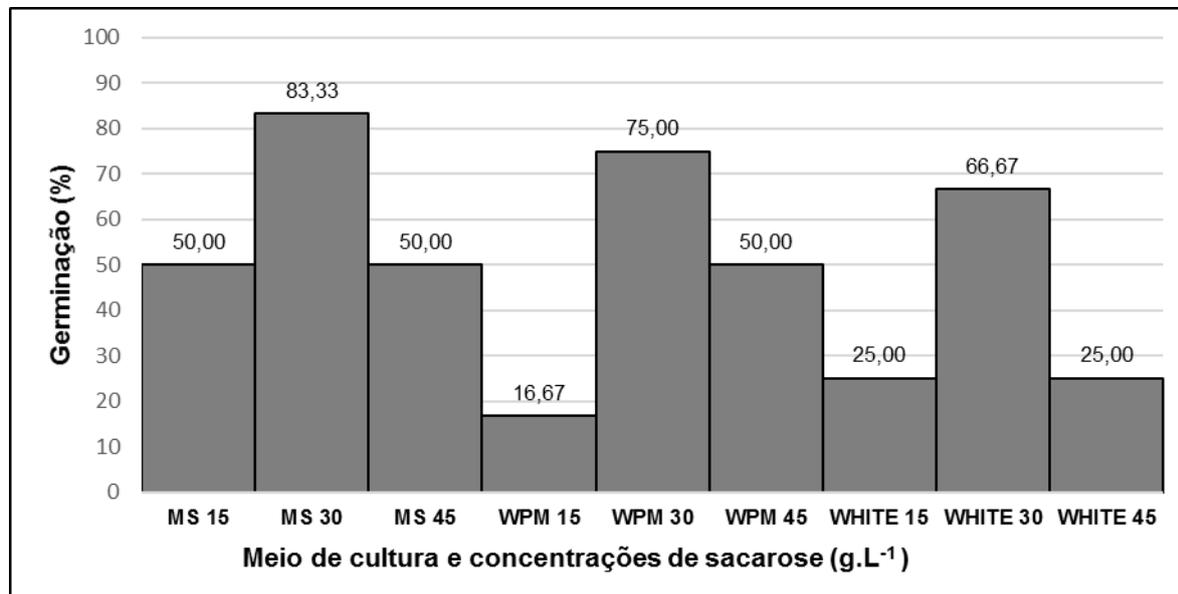


Figura 14: Porcentagem de germinação de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* em função do meio de cultura e concentração de sacarose, Rio Branco, Acre, 2014.

O cultivo de embriões zigóticos de *Syagrus coronata* na ausência de sacarose resultou na redução da germinação, enquanto a adição de sacarose teve efeitos significativos e maiores percentuais de germinação, o que confirma a

necessidade de um carboidrato como fonte de energia (SANTOS-MOURA, 2013). O efeito positivo da sacarose também está em concordância com Pádua (2012) para o cultivo de embriões de dendezeiro (*Elaeis guineenses*), onde a ausência de sacarose não promoveu a germinação *in vitro*.

Neste contexto, observa-se que as menores porcentagens de germinação foram observadas em meios com menor concentração de sacarose (15 g. L⁻¹). Estes resultados são diferentes aos obtidos por Andrade et al. (2001) para embriões de *Coffea arábica* e *Coffea canephora*, em que o meio de MS acrescido de sacarose (30 g.L⁻¹) proporcionou os melhores resultados. Há necessidade de estudos em função da espécie em decorrência de existir uma grande variação de resultados dentro de uma mesma família, como se verifica para as espécies da família Arecaceae (CARNEIRO, 2012).

Em relação aos meios de cultura, a formulação de MS, com 30 g.L⁻¹ de sacarose, apresentou os melhores resultados na germinação de embriões de *A. ulei*, com média de 83,33%, comparado aos meios WPM (75,00%) e White (66,67%). Por outro lado, a menor porcentagem de germinação (16,67%) foi observada na formulação de WPM com 15 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 14). O meio WPM também foi eficiente para o cultivo *in vitro* de embriões de *Acrocomia aculeata*, com germinação média de 80% (BORCIONI; NEGRELLE, 2012).

Ao cultivar embriões, oriundos de frutos maduros de murmuru, em meio MS com 0, 30 e 45 g. L⁻¹ de sacarose Pereira et al. (2006) observaram percentual de germinação de 56,5; 25,0 e 41,3%, respectivamente. Já embriões zigóticos extraídos de frutos imaturos tiveram maiores porcentagens de germinação.

Ao cultivar embriões de laranja-pêra, em diferentes concentrações de sacarose (0 a 60 g. L⁻¹), Ribeiro et al. (1998) observaram elevado índice de sobrevivência de embriões na presença de sacarose.

Em algumas espécies, o estágio de desenvolvimento do embrião pode apresentar efeito sinérgico com a concentração de sacarose, de forma que a presença de carboidrato(s) no meio de cultura pode ser exigida em concentrações mínimas ou até dispensável a depender das reservas do próprio embrião (GARCIA et al, 2002).

Em estudo com a espécie *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) Werner et al. (2010) não verificaram diferenças entre o meio de cultura White e as formulações de MS e WPM, respostas distintas aos obtidos com o murmuru. Por esta razão,

Glocke et al., (2006) afirmam que a comparação de diferentes meios de cultura é uma tarefa complexa, devido às interações entre os nutrientes minerais, o potencial osmótico do meio e as exigências nutricionais de cada planta.

Houve efeito significativo do meio de cultura nas características de crescimento avaliadas (Tabela 12). Para o CPA e THA, o meio MS foi significativamente melhor, a exceção do CRA em que os meios MS e WPM não diferiram entre si ($p < 0,05$). Os piores resultados foram verificados em meio White. O comprimento da altura da parte aérea variou de 0,32 a 1,89 cm nos meios avaliados, enquanto o comprimento do haustório apresentou valores de 0,47 (meio MS), 0,34 (WPM) e 0,20 (White).

TABELA 12 – Influência do meio de cultura no comprimento da parte aérea (CPA), do haustório (THA) e da raiz primária (CRA), em cm, de plantas de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Meio de cultura	Características de crescimento (cm)		
	CPA	THA	CRA
MS	1,89 a	0,47 a	0,68 a
WPM	0,95 b	0,34 b	0,71 a
White	0,32 c	0,20 c	0,20 b

As médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada variável resposta, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MS: formulado por Murashige & Skoog (1962); WPM: Wood Plant Medium, formulado por Lloyd e Mccown (1980); WHITE: formulado por White (1943).

Para o comprimento da raiz primária os meios MS e WPM tiveram resultados iguais ($p < 0,05$) e foram significativamente superior aos meio White. Dessa forma, entre as características avaliadas (CPA, THA e CRA), o CRA foi menos responsivo aos três meios estudados.

No estudo de Rezende et al. (2008), com diferentes formulações de meio e concentrações de agar, foi observado que o comprimento da parte aérea de plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) foi melhor nos meios MS e WPM comparados aos meio White, corroborando resultados verificados por Jesus (2003) ao avaliar os meios WPM e MS.

O meio White é considerado como de baixo conteúdo de nutrientes minerais (KRIKORIAN, 1991), a passo que o meio MS é um meio conhecido pelas elevadas concentrações de nitrogênio e satisfatória de Cálcio e Magnésio (SINGH; KRIKORIAN, 1991).

Bertozzo e Machado (2010) afirmam que a formulação do meio MS e suas variações são mais utilizadas em cultura de tecidos vegetais, principalmente nas espécies herbáceas.

A Tabela 13 apresenta os resultados do efeito das concentrações de sacarose no comprimento da parte, tamanho do haustório e comprimento da raiz primária. Para o CPA e THA diferenças significativas foram observadas entre 15 g. L⁻¹ e 45 g. L⁻¹ de sacarose, com melhores resultados com 45 e 15 g. L⁻¹, respectivamente. Não houve efeito significativo da sacarose no CRA, embora o menor valor médio foi obtido com 15 g. L⁻¹ de sacarose.

TABELA 13 – Influência da sacarose no comprimento da parte aérea (CPA), do haustório (THA) e da radícula (CRA), em cm, de plantas de *Astrocaryum ulei* Burret, Rio Branco, Acre, 2014.

Sacarose (g.L ⁻¹)	Características de crescimento (cm)		
	CPA	THA	CRA
15	1,38 b	0,38 a	0,26 a
30	1,12 ab	0,35 ab	0,60 a
45	0,80 a	0,27 b	0,67 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MS: formulado por Murashige & Skoog (1962); WPM: Wood Plant Medium, formulado por Lloyd e Mccown (1980); WHITE: formulado por White (1943); CPA: Comprimento da parte aérea; THA: tamanho do haustório; CRA: Comprimento da Radícula.

Embriões de açazeiro (*Euterpe oleracea*) cultivados em meio MS suplementado com 20 g. L⁻¹ de sacarose e 2% de carvão ativado apresentaram maior desenvolvimento das plântulas, enquanto o aumento da concentração de sacarose causou redução no comprimento das plântulas (MIKOVSKI, 2015). Pereira et al. (2006) obtiveram maior altura de plantas de murmuru a partir de embrião maduro cultivado em meio MS com 30 ou 45 g. L⁻¹ de sacarose, com diferença significativa da concentração 15 g. L⁻¹.

Oliveira et al. (2011), afirmam que na cultura de embriões, a adição de sacarose no meio de cultivo, proporciona maior disponibilidade de fontes energéticas para a planta cultivada *in vitro* e permite a manutenção dos processos metabólicos ativos, com resultados positivos no favorecimento do crescimento. Para o cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Acrocomia aculeata* os melhores resultados foram obtidos em meio de cultivo com 30 g. L⁻¹ (BANDEIRA et al.,

2013). Já Lédó et al. (2007) concluiu que a adição de 60 g. L⁻¹ de sacarose promoveu o maior desenvolvimento da parte aérea de *Cocos nucifera* L. O efeito positivo do aumento na concentração de sacarose foi também obtido por Silva (2002), com melhor desenvolvimento de embriões de *Cocos nucifera* L. nos meios MS e Y3, suplementados com 60 g. L⁻¹ de sacarose.

As diferentes respostas das espécies quanto a concentração de sacarose pode ser justificada pelo fato das palmeiras diferirem na quantidade de reservas nutritivas (BUCKERIDGE et al., 2000). Steinmacher (2005) verificou que, para o comprimento do haustório, o meio de cultura White proporcionou os piores resultados quando comparados com os meios de cultura MS e de Y3. Rabechault e Cas (1974) afirmam que o comprimento e desenvolvimento do haustório são influenciados pelo meio de cultivo utilizado.

O efeito positivo do aumento da concentração de sacarose na formação das raízes foi observado por Ledo et al. (2007) para *Cocos nucifera*. O menor valor para o CRA com 15 g. L⁻¹ de sacarose infere sobre a necessidade desse carboidrato para o desenvolvimento da raiz primária em murmuru.

Barceló et al. (2001) afirmam que durante o processo de rizogênese, o crescimento da parte radicular poderá retardar o desenvolvimento da parte aérea, pois o crescimento da raiz necessita de substâncias orgânicas translocadas da parte aérea para a base, o que compromete o desenvolvimento da parte aérea.

A formação de raízes no cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Euterpe oleracea* foi beneficiada pela maior concentração de sacarose (40 g. L⁻¹). Melo (2000) afirma que a emissão de raízes é uma característica chave para a avaliação da cultura de embriões de palmeiras, uma vez que, é muito comum ocorrer o processo de indiferenciação dessa estrutura.

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam a necessidade em avaliar as formulações de meio de cultura e concentração de sacarose no cultivo *in vitro* de embrião de palmeiras.

As plantas oriundas da germinação de embrião zigótico foram aclimatizadas em estufa com uso de substrato comercial e tiveram elevada sobrevivência (Figura 15).



Figura 15: Plantas de Mururu (*Astrocaryum ulei* Burret) obtidas da germinação de embrião zigótico na fase de aclimatização, Rio Branco, Acre, 2014.

4.3 Indução de calos para Embriogênese Somática

A adição de Picloram ao meio de cultura MS teve efeito significativo na indução de calos (Figura 16) com diferentes respostas morfogênicas dos embriões zigóticos de *A. ulei* em função da concentração de Picloram (Figura 17). Não houve formação de calo na ausência de Picloram e em meio suplementado com 56,25 μM da auxina, no entanto, somente na ausência de auxina foram verificados a germinação dos embriões e a formação de plantas normais (Figura 17A – D). A adição de 112,5; 225 e 450 μM de Picloram promoveram a formação de calos em 88,89 e 100% (Figura 16).

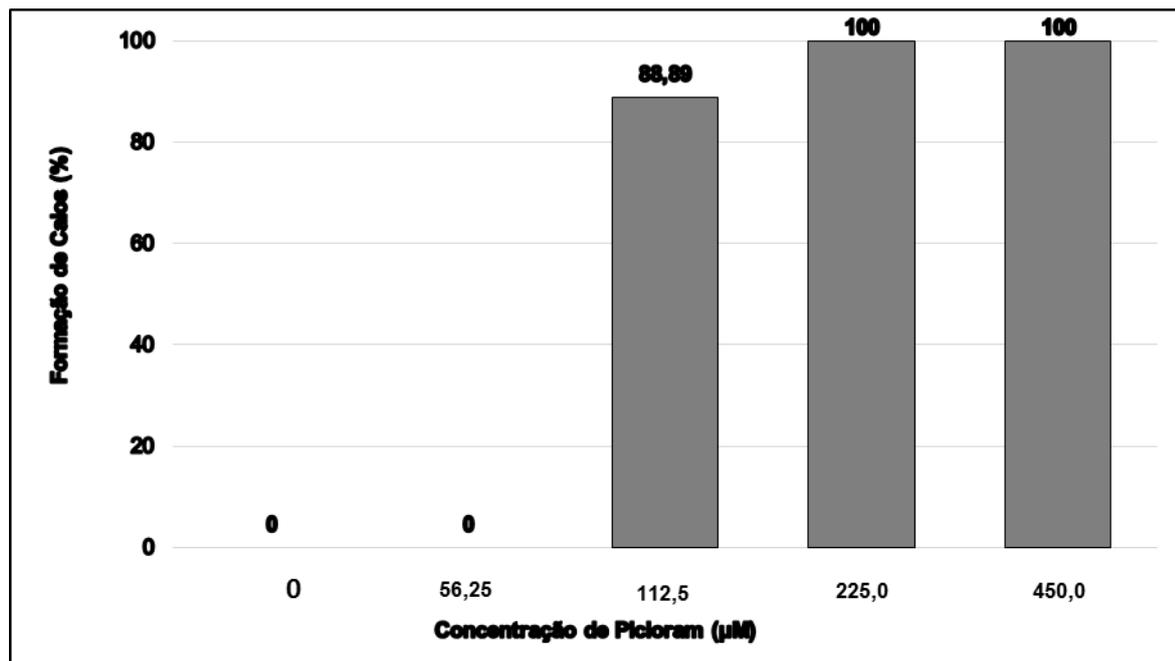


Figura 16: Formação de calos a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* em meio MS adicionado de Picloram. 0 µM, 56,25 µM, 112,5 µM, 225,0 µM e 450,0 µM, em Rio Branco, Acre, 2014.

A utilização de embriões zigóticos como explante apresenta vantagens. Além da elevada capacidade de expressar sua totipotência pela constituição meristemática, é possível obter embriões em larga escala, sua colheita pode ser facilitada e ainda reduzir a ocorrência de contaminações microbianas (TEIXEIRA et al., 1993). Steinmacher et al. (2007) afirmam que a utilização de embriões zigóticos como fonte de explante induz a formação de calos embriogênicos em *Bactris gasipaes* Kunth., que ocorreu a partir de 90 dias de cultivo em meio de indução.

No presente estudo, o processo de desdiferenciação e indução de calos em embriões de *A. ulei* foi observada a partir de 28 dias em meio acrescido de 112,5; 225 e 450 µM. Todavia, a formação de calos primários do tipo granular foi mais característico nas concentrações de 225 e 450 µM de Picloram, observado a partir de 77 dias de cultivo (Figura 17 O-P; S-T). Nessas concentrações, a desdiferenciação ocorreu a partir da região proximal dos embriões zigóticos, mediante a ruptura e posterior formação de calos primários de coloração esbranquiçada ou amarelada e que apresentaram consistência bastante compactada.

Estudos realizados com indução de calos reportam o intumescimento e aumento do volume dos embriões zigóticos a partir de quatro semanas de cultivo em meio de indução, conforme observado por Silva et al. (2010) para *Elaeis guineensis* (dendzeiro) e por Padilha (2013) em *Acrocomia aculeata*. Ainda, Luis e Scherwinski-Pereira (2014), afirmam que durante a indução de embriogênese somática em *Acrocomia aculeata* os embriões zigóticos cultivados em meio adicionado de Picloram mostraram crescimento duas vezes maior, com a dilatação, seguida de formação de calos primários.

A dilatação da região proximal e distal do embrião zigótico é importante e comumente observada no processo de indução de embriogênese somática, pois o intumescimento do explante apresenta um papel fundamental para a divisão celular, além de resultar na formação dos calos embriogênicos (BENKIRANE et al., 2000).

No caso do dendê (*Elaeis guineensis*) a formação dos calos também se deu a partir da ruptura da região proximal, na qual iniciou a formação de calos primários após 60 dias de cultivo (SILVA et al., 2010). Todavia, esse evento não é comum para todas as espécies, pois como verificado nos experimentos de Dassanayake e Sivakadachchan (1973), os embriões das espécies *Phoenix dactylifera* e *Borassus flabellifer* são bastante semelhantes, porém esses embriões não apresentaram nenhuma abertura da região proximal.

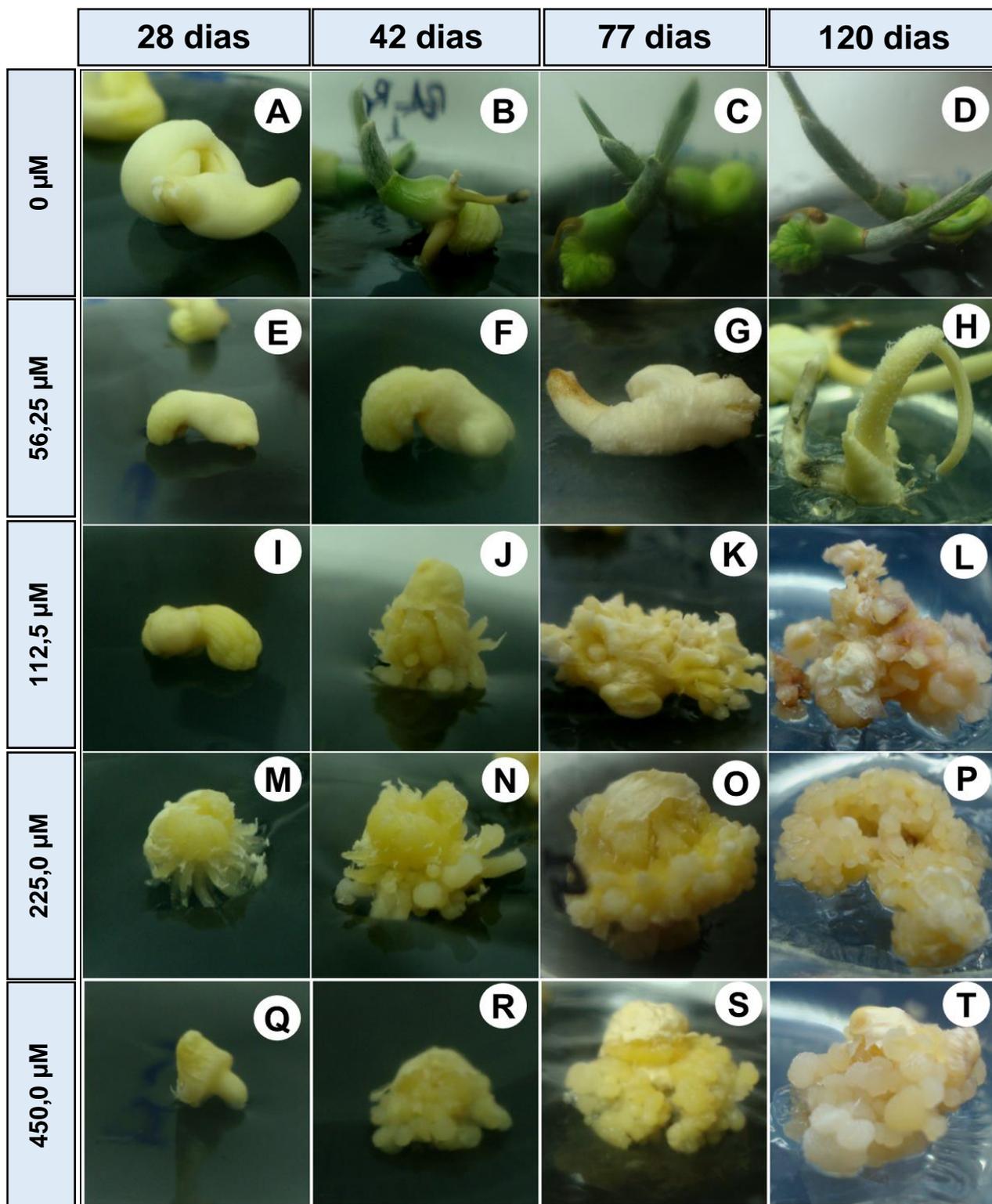


Figura 17: Indução de calos a partir de embriões zigóticos de *Astrocaryum ulei* Burret em meio MS acrescido de Picloram. 0 μM (A, B, C e D), 56,25 μM (E, F, G e H), 112,5 μM (I, J, K e L), 225,0 μM (M, N, O e P) e 450,0 μM (Q, R, S e T) aos 28, 42, 77 e 120 dias respectivamente, em Rio Branco, Acre, 2014.

A produção de calos primários de *Uncaria tomentosa* ocorreu ao final de 45 dias, verificou-se que havia maior acúmulo de fitomassa quando foi adicionada concentrações superiores a 2,07 μM de Picloram (PEREIRA et al., 2004).

A formação de calos primários em *Acrocomia aculeata* foi verificada somente aos 90 dias em meio MS suplementado com Picloram (LUIS; SCHERWINSKI-PEREIRA, 2014).

No presente trabalho, a formação de calos com características granulares foi constatada aos 120 dias em meio com 225 μM e aos 77 dias para 450 μM de Picloram (Figura 17 P, S). Essa tipologia de calos pode ser utilizada como inferência a capacidade embriogênica como observado em trabalhos com espécies de Arecaceae.

Segundo Fernando et al. (2001) o início do processo de alteração dos embriões zigóticos para calos primários se dá por meio de divisões celulares que ocorrem geralmente em células meristemáticas, por serem multipotentes e potencialmente originar outras células embriogênicas, como observado nos estudos em *Bactris gasipaes*, *Mendicago trunulata* e *Capsicum chinense*, respectivamente (ALMEIDA et al., 2012; WANG et al., 2011; SANTANA-BUZZY et al., 2009).

Nos estudos com *Acrocomia aculeata* e *Carica papaya*, os calos primários apresentaram um padrão morfológico semelhante com os de murmuru. As células encontravam-se compactas em intensa divisão, algumas regiões periféricas dos embriões apresentavam uma aparência friável (PADILHA, 2013; FERNANDO et al., 2001). Gueye et al. (2009) definiram os calos embrionários por apresentarem em sua estrutura uma região central, formada por células meristemáticas e uma região periférica, com células menores.

Pádua (2012) observou que a formação dos calos primários em dendezeiro não ocorreu de forma homogênea, pois houve a necessidade da realização de uma análise de classificação de acordo com as características que os embriões se comportavam, fator este particular de cada espécie.

Para embriões zigóticos de pupunha, a adição do Picloram incrementou a indução da embriogênese somática (STEINMACHER; GUEIRRA, 2003), resposta também verificada por Pádua (2012) durante a indução de embriogênese somática em dendezeiro. Em vários trabalhos há citações do processo de indução de calos com características embriogênicas através da adição de Picloram.

Para pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.) a concentração de 300 μM de Picloram proporcionou a máxima capacidade embriogênica e induziu a formação de calos, concentração essa próxima as utilizadas com o murmurú (225, 450 μM) (STEINMACHER, 2005).

A eficiência do Picloram na indução de calos embriogênicos e formação de embriões somáticos é relatada em outros estudos com pupunha (STEINMACHER et al., 2007), dendezeiro (SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2010; SILVA et al., 2012), açazeiro (SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2012) e *Areca catechu* (KARUN et al., 2004).

Ainda sobre a influência das concentrações de Picloram para a indução de calos primários, a adição ao meio de concentrações elevadas pode reduzir as respostas da formação de calos, em razão de um decréscimo na aquisição da competência embriogênica (STEINMACHER, 2005).

De acordo com Silva et al. (2010), aos 90 dias de cultivo, os explantes de dendê mostraram homogeneidade na formação de calos, e períodos de cultivo superiores não tiveram alterações significativas na formação de novos calos primários.

Em *Acrocomia aculeata*, após 150 dias, os calos formados na região distal apresentaram características embriogênicas, seguido de aumento na pigmentação amarela e progrediram para formação de calos embriogênicos, salientado pelos autores que essas estruturas foram mais evidentes nos meios que continham Picloram (LUIS; SCHERWINSKI-PEREIRA, 2014).

Esses resultados corroboram com os obtidos em *Elaeis guineensis*, onde ocorreu o mesmo padrão de formação de calos embriogênicos e os autores determinaram que os calos apresentavam um aspecto compacto, nodular e coloração amarelo-claro (SILVA et al., 2010). Moura et al. (2009) observaram dois tipos padrões de calos na indução da embriogênese somática a partir de embriões zigóticos em *Acrocomia aculeata*, e classificaram os calos de acordo com suas características em friável e nodular, este último considerado um calo embriogênico.

No trabalho realizado com *E. guineensis*, a presença de Picloram agregou de forma produtiva a indução da embriogênese somática e proporcionou a conversão dos embriões somáticos (ABERLENC-BERTOSSI et al., 1999). Conforme proposto por Guerra e Handro (1998), os embriões somáticos de

pupunha foram transferidos para o meio de cultura de conversão, nos quais resultaram em plântulas com desenvolvimento balanceados de parte aérea e raízes.

5 CONCLUSÕES

Os diásporos e as amêndoas de *Astrocaryum ulei* apresentam variabilidade morfométrica;

As formulações do meio MS e WPM, acrescidas de sacarose (30 g L⁻¹), são indicadas para germinação de embrião zigótico e formação de plantas de *A. ulei*;

O meio proposto por White não é indicado a germinação e formação de plantas em *A. ulei*;

A adição de 225,0 ou 450,0 µM de Picloram ao meio MS induz a formação de calos com características morfológicas pró-embriogênicas.

REFERÊNCIAS

ABERLENC-BERTOSSI, F.; NOIROT, M.; DUVAL, Y. B. A. Enhances the germination of oil palm somatic embryos derived from embryogenic suspension culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 56, p. 53-57, 1999.

AGUIAR, M.; MENDONÇA, M. S. Aspectos morfo-anatômicos do embrião de *Euterpe precatória* Mart. durante o processo germinativo. **Acta Botânica Brasílica**, v. 16, p. 241-249, 2002.

ALMEIDA, M.; ALMEIDA, C. V.; GRANER, E. M.; BRONDANI, G. E.; ABREU-TARAZI, M. F. Pre-procambial cells are niches for pluripotent and totipotent stem-like cells for organogenesis and somatic embryogenesis in the Peach palm: a histological study. **Plant Cell Reports**, v. 31, p. 1495-1515, 2012.

ALMEIDA, S. S. de; AMARAL, D. D. do; SILVA, A. S. L. da. Análise florística e estrutura de florestas de várzea no estuário amazônico. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 4, p. 513-524, 2004.

ALTMAN, R. F. A. A exploração industrial de sementes oleaginosas amazônicas. Rio de Janeiro: INPA, 24 p. 1958.

ALVES, M. R. P.; DEMATTÊ, M. E. S. P. Palmeiras: características botânicas e evolução. Campinas: Fundação Cargill, 129 p. 1987.

ANDRADE, L. M. C. O.; PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. R.; PEREIRA, A. B.; CAVALCANTE-ALVES, J. M. Cultivo *in vitro* de embriões de *Coffea arabica*: influência de NAA e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p. 1063-1070, 2001.

ARAÚJO, M. G. P. de; LEITÃO, A. M.; MENDONÇA, M. S. de. Morfologia de fruto e da sementes de inajá (*Attalea maripa* (Aubl.) Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 31-38, 2000.

ARAÚJO, R. R. Fenologia e Morfologia de plantas e biometria de frutos e sementes de muricizeiro (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich.) do tabuleiro costeiro de Alagoas. 2009. 89f. Dissertação (mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Semi-Árido – Fitotecnia. Mossoró, 2009.

BALICK, M. J. Amazonian oil palms of promise: a survey. **Economy Botany**, v. 33, n. 1, p. 11-28, 1979.

BALZON, T. A. Germinação, indução da embriogênese somática e avaliação morfo-histológica da multiplicação *in vitro* de calos embriogênicos obtidos a partir de embriões zigóticos de dendezeiro (*Elaeis guineenses* Jacq.). Projeto Final de Estágio Supervisionado. Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, Distrito Federal, p. 49, 2008.

BANDEIRA, F. S. Cultivo *in vitro* e embriogênese somática de embriões zigóticos de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges). 2008. 92f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2008.

BANDEIRA, F. S.; XAVIER, A.; LANI, E. R. G.; OTONI, W. C. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos maduros de macaúba influenciada por temperatura de armazenamento dos frutos e contrações de sacarose. **Revista Árvore**, v. 37, n. 4, p. 691-700, 2013.

BARBOSA, R. I.; LIMA, A. D. JÚNIOR MOURÃO, M. Biometria de frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L. F.- Arecaceae): Produção de polpa e óleo em uma área de savana em Roraima. **Revista Amazônia Cia e Desenv.**, Belém, v. 5, n.10, 2010.

BARBOZA, S. B. S. C.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; TEIXEIRA, J. B.; PORTES, T. A.; SOUZA, L. A. C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 185-194, 2006.

BARCELÓ, C. J.; NICOLÁS, R. G.; SABATER, G. B.; SANCHEZ, T. R. **Fisiologia vegetal**. 6 ed. Madri: Pirâmide, p. 566, 2001.

BARTOS, P. M. C. Embriogênese somática do cafeeiro (*Coffea arábica* L.) e caracterização bioquímica e anatômica das diferentes etapas envolvidas no processo. 176f. 2012. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Brasília – Instituto de Ciências Biológicas. Brasília, Distrito Federal, 2012.

BATISTA, G. S.; COSTA, R. S.; GIMENES, R.; PIVETTA, K. F. L.; MÔRO, F. V. Aspectos morfológicos dos diásporos e das plântulas de *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc. – Arecaceae. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 2, n. 3, p. 170-176, 2011.

BAUD, S.; BOUTIN, J. P.; MIQUEL, M.; LEPINIEC, L.; ROCHAT, C. Na integrated overview of seed development in *Arabidopsis thaliana* ecotype ws. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 151-160, 2002.

BENKIRANE, H.; SABOUNJI; CHLYAH, A.; CHLYAH, H. Somatic embryogenesis and plant regeneration from fragments of immature inflorescences and coleoptiles of durum wheat. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 61, p. 107-113, 2000.

BERTOZZO, F.; MACHADO, I. S. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1477-1482, p. 2010.

BEZERRA, V. S. Considerações sobre a palmeira murumuzeiro (*Astrocaryum murumuru* Mart.), Macapá, EMBRAPA, 2012. Comunicado Técnico 130.

BLAKE, J. Tissue culture propagation of coconut, date palm and oil palm. In: DODDS, J. H. (ed.). **Tissue Culture of Trees**. Westport, Connecticut: Avi Publishing Company, p. 29-50, 1983.

BORCIONI, E.; NEGRELLE, R. R. B. Aplicação de análogo de brassinosteróide (Biobras 16®) sobre a germinação e crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bocaiúva. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 270-275, Santa Maria, SC, 2012.

BOZHKOVA, P.; VAN ARNOLD, S. Polyethylene glycol promotes maturation but inhibits further development of *Picea abies* somatic embryos. **Physiol Plant**, v. 104, p. 211-224, 1998.

BRAUN, A. Cultivated palms of Venezuela. **Principes**, v. 12, p. 54, 1968.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S. Mobilization of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 141-156, 2000.

BURUN, B.; POVRAZOGLU, E. C. Embryo culture in Barley (*Hordeum vulgare* L.). **Turkish Journal of Biology**, v. 26, n. 3, p. 175-180. 2002.

BUSTAMANTE, G. F.; MIRANDA, I. P. de; RABELO, A. Palmeiras (Arecaceae) e seus produtos. Manaus, Amazonas, Brasil. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), **Rapid Color Guide**, v. 1, 2010.

CALAMAR, A.; KLERR, G. J. de. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 70, p. 207-212, 2002.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA – São Paulo/EMBRAPA-CNPH, v. 2, p. 87-132, 1998.

CARDOSO, J. de N. O.; LEMOS, O. F.; CONCEIÇÃO, H. E. O. da; ALVES, S. A. O.; AMARAL, L. M. S. Resgate de embriões *in vitro* de híbridos de dendezeiro. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 4; Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental, 10. 2007. Belém, Pará. Anais... Belém-Pará: UFRA: EMBRAPA Amazônia Oriental. 2007.2008.

CARIM, M. J. V.; COSTA NETO, S. V. da; SILVA, L. M. A. da.; AMARAL, D. D. do.; COSTA, D. C. T. Biometria de frutos e sementes do murumuru (*Astrocaryum murumuru* L.) em floresta de várzea no município de Mazagão, Amapá, Brasil. In: 60º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. Feira de Santana – Bahia, 2009.

CARMAN, J. G. Embryogenic cells in plant tissue cultures: occurrence and behaviour. ***In Vitro Cellular Developmental Biology – Plant***, v. 26, p. 746-753, 1990.

CARNEIRO, P. A. P. Cultivo *in vitro* de embriões de coquinho azedo (*Butia capitata* Mart.) Becc). 2012. 70f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, 2012.

CARVALHO, D. C. de; BIASI, L. A. Organogênese do caquizeiro a partir de segmentos radiculares. ***Ciência Rural***, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1401-1406, 2004.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5ª ed. Jaboticabal: FUNEP, 590 p. 2012.

CATO, S. C. Ação de bioestimulante nas culturas do amendoimzeiro, sorgo e trigo e interações hormonais entre auxinas, citocininas e giberilinas. 2006. 75f. Tese (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, São Paulo. 2006.

CIO, L. P. B. A propagação *in vitro* de planta. O que é isso? ***Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento***. Brasília, v. 3, n. 19, p. 16-21, 2001.

CORREIA, D.; GONÇALVES, A. N.; COUTO, H. T. Z.; RIBEIRO, M. C. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophyllana* na multiplicação *in vitro*. IPEF. Piracicaba, v. 48/49, p. 107-116, 1995.

COSTA, C. J.; MARCHI, E. C. S. Germinação de sementes de palmeiras com potencial para produção de agroenergia. **Informativo Abrates**, v. 18, n. 1, 2, 3, p. 39-50, 2008.

COSTA, F. H. S.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. de; SANTOS, A. M. Perda de água e modificações anatômicas em folhas durante a aclimação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 742-748, 2009.

COSTA, F. H. S.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; PEREIRA, M. A. A; OLIVEIRA, J. P. de. Efeito da interação entre carvão ativado e NG-benzil-aminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, cv. Grande Naine (AAA). **Ver. Bras. Frutic.**, v. 28, p. 280-283, 2006.

COSTA, N. M. de S.; ALOUFA, M. A. I. Organogênese direta de *Phoenix dactylifera* L. via pecíolo cotiledonar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 36, n. 3, p. 195-198, 2006.

CRUZ, C. D. Programa genes: estatística experimental e matrizes. 1 ed. Viçosa: UFV, v.1, 2006.

CRUZ, E. D.; MARTINS, F. O.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de Jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 01-10, 2001.

CURTI, A. R. Contribuição para a micropropagação de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. 2011. 94f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal, Área de Concentração em Silvicultura), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2011.

DANTAS, A. C. V. L.; COSTA, M. A. D. de C.; SANTOS-SEREJO, S. A. S. J. A. dos. Propagação de fruteiras potenciais para o nordeste brasileiro. **Tópicos em Ciências Agrárias**, v. 1, UFRB, p. 26-35, 2009.

DASSANAYAKE, M. D.; SIVAKADACHCHAN, B. Germination and seedling structure of *Borassus flabellifer* L. **Ceylon Journal of Science**, Ceilão, v. 10, n. 2, p. 157-164, 1973.

DEMASON, D. A. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm *Washingtonia filifera*. **American Journal of Botany**, v. 75, p. 330-337, 1988.

DOMINGOS NETO, V. C.; FERREIRA, E. J. L. Biometria de cachos, frutos e sementes da palmeira jarina (*Phytelphas mcrocarpa* ruiz e pavon) oriundos de fragmentos florestais primários e secundários do leste do Acre. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** – Goiânia, v. 10, n. 19, p. 2765, 2014.

DONADIO, N. M. M.; DEIMATTÊ, M. E. S. P. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub) e jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth). Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 64-73, 2000.

DURZAN, D. J. Performance criteria in response surfaces for metabolic phenotypes of clonally propagated woody perennials. In: DHAWAN, V. (ed). Applications of Biotechnology in Forestry and Horticulture. **Plenum Press**, New York, p. 81-203, 1989.

EBERT, A.; CONTINI, A. Z.; BRONDANI, G. E.; COSTA, R. B. da. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de *Mauritia flexuosa* sob diferentes temperaturas. **Adv. For. Sci**, v. 1, n. 1, p. 39-43, 2014.

ELKONIN, L. A.; PAKHOMOVA, N. V. Influence of nitrogen and phosphorus on induction embryogenic callus of sorghum. **Plant Cell and Tissue Organ Culture**, v. 61, p. 115-123, 2000.

EMONS, A. M. C. Somatic embryogenesis: cell biological aspects, **Acta Botanica Neerlandica**, Stuttgart, v. 41, n. 1, p. 1-14, 1994.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. Sinauer Associates. 2° edition. Sunderland, MA, 2005.

FEHÉR, A.; PASTERNAK, T.; OTVOS, K.; MISKOLCZI, D.; DUDITS, D. Induction of embryogenic competence in somatic plant cells: a review. **Biologia**, Bratislava, v. 57, 2002.

FERNANDO, J. A.; MELO, M.; SOARES, M. K. M.; APEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomy of somatic embryogenesis in *Carica papaya* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 44, n. 3, p. 247-255, 2001.

FERNANDO, S. C.; GAMAGE, C. K. A. Abscisic acid induced somatic embryogenesis in immature embryo explants of coconut (*Cocos nucifera* L.). **Plant Science**, v. 151, p. 193-198, 2000.

FERREIRA, E. J. L. F. **Manual das palmeiras do Acre**, Brasil. Disponível em: http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual_palmeiras.html. Acesso em: 26 de jan. de 2015.

FERREIRA, S. A. do N.; GENTIL, D. F. de O. Extração, embebição e germinação de sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). **Acta Amazônica**, v. 36, n. 2, p. 141-146, 2006.

FERRONATO, A.; GIGIMART, S.; CAMARGO, I. P. Caracterização das sementes e comparação de métodos para determinar o teor de água e sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgiloides* H. B. K – Papilionoidae) e pé-de-anta (*Cybistax antisyfilitica* Mart-Bignoniaceae). **Revista Brasileira de sementes**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 206-214, 2000.

FKI, L.; MASMOUDI, R.; DRIRA, N.; RIVAL, A. Na optimized protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm, *Phoenix dactylifera* L., cv. **Deglet Nour Plant Cell Reports**, v. 21, p. 517-524, 2003.

FRANKE, I. L. **Principais usos e serviços de árvores e arbustos promissores que ocorrem em pastagens no estado do Acre**. Rio Branco, Acre: EMBRAPA-Acre, 1999. 6 p. (EMBRAPA ACRE). Comunicado Técnico 106.

FRANKENBERGER, J. R.; ARSHAO, N. Phytohormones in soils: microbial production and function. Marcel Dekker. Inc. New York, 1995.

FREITAS, E. de O. Embriogênese somática e análises morfoanatômicas e por cimetria de fluxo em açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). 73f. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade de Brasília – UnB. Brasília, Distrito Federal, 2014.

FREITAS, M. A. B.; LOPES, M. A.; FARIAS, L. M. A. Fenologia reprodutiva de *Astrocaryum murmuru* Mart. Em um fragmento de floresta de várzea estuarina em

Belém, Pará. In: X CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, São Lourenço, Minas Gerais. 2011.

FUENTES, G.; TALAUERA, C.; OROPEZA, C.; DESJARDINS, Y.; SANTAMARIA, J. M. Exogenous sucrose can decrease *in vitro* photosynthesis but improve field survival and growth of coconut (*Cocos nucifera* L.) *in vitro* plantlets. **In Vitro Cellular Developmental Biology – Plant**, v. 41, p. 69-76, 2005.

GAJ, M. D. Factors influencing somatic embryogenesis induction and plant regeneration with particular reference to *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant Growth Regulator**, v. 43, p. 27-47, 2004.

GALDINO, A. P. P. Estudo de Mercado: Andiroba, Buriti/Miriti e Murumuru, 2007. Disponível em: http://www.ncsu.edu/.../Estudo_de_mercado. Acesso em: 26 de jan. de 2015.

GAMA, J. R. V.; BOTELHO, S. A.; BENTES-GAMA, M. de M. Composição florística e estrutura da regeneração natural de floresta secundária de várzea baixa no estuário amazônico. **Revista Árvore**, Viçosa, Minas Gerais, v. 26, n. 4, p. 559-566, 2002.

GAMBORG, O. L. The effects of amino acids and ammonium on the growth of plants cells in suspension culture. **Plant Physiology**, v. 45, p. 372-375, 1970.

GARCIA, J. L.; TRONCOSO, J.; SARMIENTO, R.; TRONCOSO, A. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 69, p. 95-100, 2002.

GIRI, C. C.; SHYAMKUMAR, B.; ANJANEYULU, C. Progress in tissue culture, genetic transformation and applications of biotechnology to trees: an overview. **Trees**, n. 18, p. 115-135, 2004.

GLOCKE, P.; DELAPORTE, K.; COLLINS, G.; SEDGLEY, Micropropagation of juvenile tissue of *Eucalyptus erythronema* x *Eucalyptus stricklandii* cv. 'Urrbae Gem'. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, v. 42, p. 139-143, 2006.

GÓES, G. B. Propagação do tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.) e da pitombeira (*Talisia esculenta* Raldk.) por enxertia. 2011. 73f. Dissertação (Mestrado em

Agronomia – Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte, 2011.

GORRET, N.; ROSLI, S. K. B.; OPPENHEIM, S. F.; WILLIS, L. B.; LESSARD, P. A.; KHA, C.; SINSKEY, A. J. Bioreactor culture of oil palm (*Elaeis guineenses*) and effects of nitrogen source, inoculums size, and conditioned médium on biomas production. **Journal of Biotechnology**, v. 108, p. 253-263, 2004.

GOOGLE EARTH, MAPAS. Imagens do Campus da Universidade Federal do Acre, UFAC. Disponível em: <http://www.google.earth.com.br//>. Acesso em: 26 de fev. 2015.

GRANER, E. M. Avaliações morfofisiológicas do desenvolvimento de microplantas de pupunheiras submetidas a tratamentos com biorreguladores. 2009. 242f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, 2009.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (eds). Culturas de tecidos e transformação Genética de plantas. Brasília, EMBRAPA-CBAB, v. 1, p. 533-568, 1998.

GUEDES, R. da S. Embriogênese somática e regeneração de plantas de dendezeiro. 2008. 126f. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-graduação em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal). Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, 2008.

GUERRA, M. P. Embriogênese somática em *Euterpe edulis* Mart. (Palmae). Tese (Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo). São Paulo, 1989.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Apostila de biotecnologia: introdução ao conceito de biotecnologia. LFDG/CCA-UFSC: D. A. Steinmacher. 2006, p. 41. (Material de apoio).

GUERRA, M. P.; HANDRO, W. Somatic embryogenesis and plant regeneration in embryo cultures of *Euterpe edulis* Mart. (Palmae). **Plant Cell Report**, v. 7, p. 550-552, 1998.

GUERRA, M. P.; HANDRO, W. Somatic embryogenesis and plant regeneration in different organs of *Euterpe edulis* Mart. (Palmae): Control and structural features. **Journal of Plant Research**, v. 111, p. 65-71, 1998.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA: CBAB, v. 2, p. 533-568, 1999.

GUEYE, B.; MORCILLO, F.; COLLIN, M.; GARGANI, D.; OVERVOORDE, P.; ABERLENC-BERTOSSI, F.; TRANBARGER, T. J.; SANE, D.; TREGGAR, J. W.; BORGEL, A.; VERDEIL, J. Acquisition of callogenic capacity in date palm leaf tissues in response to 2,4-D treatment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 99, n. 35-45, 2009.

GUIMARÃES, D. N.; BERNARDINO, M. M.; RUBIO NETO, A.; PEREIRA, F. D.; SILVA, F. G. Germinação *in vitro* de macaúba [*Acrocomia aculeata* (JACQ.) LOOD. Ex.Mart.]: influência do volume e tipo de meio de cultivo. In: I CONGRESSO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DO CÂMPUS RIO VERDE DO IFGoiano. Goiânia, Goiás. 2012.

GUIMARÃES, D. N.; LANOI, L. G. P.; ALBERTO, P. S.; PEREIRA, F. D.; SILVA, F. G. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de tucumã (*Astrocaryum huaimi* Mart.) avaliação do tipo e concentração do meio de cultivo. In: I CONGRESSO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DO CÂMPUS RIO VERDE DO IFGoiano. Rio Verde – Goiás, 2012.

GUPTA, P. R.; TIMMIS, R.; CARLSON, W. C. Somatic embryogenesis: a possible tool for large-scale propagation of forestry species. In: SOH, W. Y.; LIU, J. R.; KOMANING, A. (eds). Advances in Developmental Biology and Biotechnology of Higher Plants. **Korean Soc. Plant, Tissue, Culture**, p. 18-37, 1993.

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

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W.; SHERMANBROYLES, S. L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forests**, Dordrecht, v. 6, n. 1-4, p. 95-124, 1992.

HANDRO, W.; FLOH, E. I. S. Aspectos básicos do controle da morfogênese *in vitro*. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. Técnicas de aplicação da cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCT/EMBRAPA-CNPq, p. 203-212, 1990.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. Field guide to the palms of the Americas. New Jersey, Princeton University, 352 p. 1995.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de Eucalyptus: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Instituto de pesquisas e Estudos Florestais, n. 192, p. 14, 2000. (Circular Técnica).

HERINGER, A. S. Embriogênese somática e criopreservação de embriões somáticos em pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). 128f. 2013. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais). Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed). Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA – São Paulo/EMBRAPA: CNPH, v. 1, p. 371-393, 1998.

HUONG, L. T. L.; BAIOTTO, M.; HUY, B. P.; MEZZETTI, B.; SANTILLOCCHI, R.; ROSATI, P. Somatic embryogenesis in canary Island date palm. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.56, p. 1-7, 1999.

IOSSI, E.; MORO, F. V.; SANDER, R. Seed anatomy and germination of *Phoenix roebelenii* O' Brien (Arecaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 121-128, 2006.

JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; PASQUAL, M.; CARVALHO, M.; TAVARES, L. V. Efeito de diferentes concentrações de BAP e dos meios básicos MS e WPM na proliferação e desenvolvimento de brotos axilares de *Coffea arabica* *in vitro*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL. v. 3, Porto Seguro, **Resumos**. Brasília: Embrapa Café, p. 93, 2003.

JIMÉNEZ, V. M. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 196-223, 2001.

JIMÉNEZ, V. M.; GUEVARA, E.; HERRERA, J.; BANGERFH, F. Evolution of endogenous hormone concentration in embryogenic cultures of carrot during early expression of somatic embryogenesis. **Plant Cell Reports**, v. 23, p. 567-572, 2005.

JOGESWAR, G.; RANADHEER, D.; ANJIAH, V.; KISHOR, P. B. K. High frequency somatic embryogenesis and regeneration in different genotypes of

Sorghum bicolor (L.) Moench from immature inflorescence explants. ***In Vitro Cellular Developmental Biology Plant***, v. 43, p. 159-166, 2007.

KAHN, F. The genus *Astrocaryum* (Arecaceae). ***Revista peru. Biol.***, v.15, n.1, p. 31-48, 2008. Suplemento.

KAMADA, K.; HOUKIN, R.; IWASAKI, V.; ABE, H. A high-field magnetic resonance imaging study of experimental vasogenic brain edema and its response to AVS: 1-2-bis (nicotinamido) propane. ***Acta Neurochir***, v. 60, p. 463-470, 1994.

KARUN, A.; SIRIL, E. A.; RADHA, E.; PARTHASARATHY, V. A. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explants of arecanut (*Areca catechu* L.). ***Current Science***, v. 86, p. 1623-1628, 2004.

KAUTH, P. J.; VENDRAME, W. A.; KANE, M. E. *In vitro* seed culture and seedling development of *Calopogon tuberosus*. ***Plant Cell Tissue and Organ Culture***, v. 85, p. 91-102. 2006.

KIYOSUE, T.; OHAD, N.; YADGGARI, R.; HANNON, M.; DINNENY, J.; WELLS, D.; KATZ, A.; MARGOSSIAN, L.; HARADA, J.; GOLDBERG, R. B.; FISCHER, R. L. Control of fertilization independent endosperm development by the MEDEA polycomb gene in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, v. 96, p. 4186-4191, 1999.

KOEBERNIK, J. Germination of palm seed. ***Principes***, v. 15, p. 134-137, 1971.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. M.; MROGINSKY, L. M. (Eds). *Cultivo de tejidos en la agricultura; fundamentos y aplicaciones*. Cali: CIAT, p. 41-77, 1991.

LAKSHMANAN, P.; GEIJSRES, R. J.; WANG, L.; ELLIOTT, A.; GROF, C. P. L.; BERDING, N.; SMITH, G. R. Developmental and hormonal regulation of direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum* spp. interspecific hybrids) leaf culture. ***Plant Cell Reports***, v. 25, p. 1007-1015, 2006.

LARA, M. A. C.; MONTEK, A. V. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. ***Revista Fitotecnia Mexicana***, v. 25, n. 2, Chapingo, México, p. 213-217, 2002.

LEÃO, J. R. A. Micropropagação de *Aechmea setigera* Mart. Ex. Schuly e Schult. F. (bromeliaceae): uma espécie de bromélia nativa da Amazônia sul-ocidental. Rio Branco, 2013. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência, Inovação e tecnologia para a Amazônia) – Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia. Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2013.

LÉDO, A. da S.; GOMES, K. K. P.; BARBOZA, S. B. S. C.; VIEIRA, G. S. S.; TUPINAMBÁ, E. A.; ARAGÃO, W. M. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de coqueiro-anão. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 147-154, 2007.

LÉDO, A. da S.; GOMES, K. K. P.; BARBOZA, S. B. S. C. B.; VIEIRA, G. S. S. V.; TUPINAMBÁ, E. A.; ARAGÃO, W. M. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de coqueiro-anão. **Pesq. Agropec. Bras**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 147-154, 2007

LÉDO, A. da S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K.; MENEZES, I. C.; LEDO, C. A. S.; OLIVEIRA, M. S. P. Cultura *in vitro* de embriões zigóticos de açazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, n. 23, n. 3, p. 468-472, 2001.

LÉDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA, J. J. F. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia spenciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 989-993, 2007.

LÉDO, A. da S.; TUPINAMBÁ, E. A.; ARAGÃO, W. M. de. Cultura *in vitro* de embriões zigóticos de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui. EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, ISSN, p. 1678-1961, 2007. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

LELJAK-LEVANIC, D.; BAUER, N.; MIHALJEVIC, S.; JELASKA, S. Somatic embryogenesis in pumpkin (*Cucurbita pepo* L.): controlo f somatic embryo developmet by nitrogen compounds. **Journal Plant Physiology**, v. 161, p. 229-236, 2004.

LEMOS, O. F. P. Mutagênese e tecnologia *in vitro* no melhoramento genético de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Piracicaba, 2003. 159f. Tese (Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo). 2003.

LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. de S.; ALENCAR, L. M. C. de; NETO, C. E. R.; ALBUQUERQUE, M. M. de. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-

açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, 2002.

LINHART, Y. B.; MITTON, J. B.; STURGEON, K. B.; DAVIS, M. L. Genetic variation in space and time in a population of ponderosa pine. **Heredity**, Oxford, v. 46, n. 407-426, 1981.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel *laurel kalennta latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Combined Proceedings**, v. 30, p. 421-427, 1980.

LOPES, V. S. Morfologia e fenologia reprodutiva de ariri (*Syagrus vagans* (Bondar) Hawkes) – Arecaceae – numa área de caatinga do município de senhor do Bonfim- BA. 2007. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2007.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil, v. 1, 4 ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

LOYOLA-VARGAS, V. M.; FUENTES, C.; MONFORTE-GONZALES, M.; MENDEZ ZEEL, M.; ROJAS, R.; MIJANGOS-CORTES, J. Coffee tissue culture as a new model for the study of somaclonal variation. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ. 18. Helsinki. Proceedings... Paris: ASIC, p. 302-307, 1999.

LUIS, Z. G.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. An improved protocol for somatic embryogenesis and plant regeneration in macaw palm (*Acrocomia aculeate*) from mature zygotic embryos. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, v. 118, p. 485-496, 2014.

LUZ, P. B. da. Germinação e aspectos morfológicos de sementes de *Archontophoenix cunninghamii* H. Wendl e Drude (Arecaceae). 2008. 63f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção e Tecnologia de sementes). Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, 2008.

MACEDO, M. C.; SCALON, S. P. Q.; SARI, A. P.; SCALON FILHO, H.; ROSA, Y. B. C. J.; ROBAINA, A. D. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Magonia pubescens* ST. Hil, Sapindaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 202-211, 2009.

MACIEL, A. L. de R.; SILVA, A. B. da; PASQUAL, M. Aclimação de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, 2000.

MALDANER, J.; NICOLOSO, F. T.; SANTOS, E. S. dos; FLORES, R.; SKREBSKY, E. C. Sacarose e nitrogênio na multiplicação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1201-1206, 2006.

MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de *Erythrina variegata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 3, p. 08-15, 2007.

MATTIA, R. C. Embriogênese somática a partir de embriões zigóticos de dendezeiro (*Elaeis guinensis* Jacq.). Monografia (Ciências Biológicas – Setor de Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2009.

MEEROW, A. W. Palm seed germination. Flórida, Cooperative Extension Service, p. 10, 1991. (Bulletin 274).

MELO, B. Cultivo de embrião *in vitro* da guarirobeira (*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.) 2000. 117 f. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

MELO, B. de; PINTO, J. E. B. P.; LUZ, J. M. Q.; PEIXOTO, J. R.; JULIATTI, F. C. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guarirobeira [*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.]. **Ciência Agrotec.**, Lavras, Minas Gerais, v. 25, n. 6, p. 1301-1306, 2001.

MENDONÇA, C. C. de; LIMA, A. F. de; SILVA, A. S. da; SILVA, G. M. da; BARBOSA, C. de S.; FERREIRA, E. J. L. Biometria dos frutos e sementes da palmeira babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) oriunda do sudoeste de Rondônia, Brasil. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Progresso da Ciência, v.63, 2011, Goiânia – Goiás, Anais..., Goiânia: SBPC, 2011. CD ROM.

MENDONÇA, M. S. de; OLIVEIRA, A. B. de; ARAÚJO, M. G. P. de; ARAÚJO, L. M. Morfo-anatomia do fruto e semente de *Oenocarpus minor* Mart. (Arecaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, 2008.

MERKLE, S. A.; PARROTT, W. A.; FLINN, B. S. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis in plants. **Dordrecht**: Kluwer Academics, p. 155-203, 1995.

MIKOVSKI, A. I.; CARVALHO, I. F. de; SANDER, N. SILVA, C. J. da; SILVA, M. L. da. Efeito de sacarose e carvão ativado na germinação e no desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de açai (*Euterpe oleracea*). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 869, 2015.

MIRANDA, I. P. de A.; RABELO, A.; BUENO, C. R.; BARBOSA, E. M.; RIBEIRO, M. N. S. Frutos de palmeiras da Amazônia. Manaus, INPA, 118 p. 2001.

MITJA, D.; SILVA, J. C. S.; MELO, S. L. de; FILHO CHAIB, H. Biometria dos frutos e sementes de babaçu, Natividade – Tocantins. In: IX SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO: Desafios e estratégias para equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Brasília – Distrito Federal, 2008.

MOURA, R. C.; LOPES, P. S. N.; BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; GOMES, J. G.; PEREIRA, M. B. Biometria de frutos e sementes de *Burtia capitata* Mart. Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no norte de Minas Gerais, Brasil. **Biota Neotropical**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 416-410, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossays with tabaceo tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NASCIMENTO, J. F. do; FERREIRA, E. J. L.; CARVALHO, A. L.; REGIANI, A. M. Parâmetros biométricos dos cachos, frutos e sementes da Palmeira Murmuru (*Astrocaryum ulei* Burret.) encontrada na região de Porto Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 90-92, 2007. Suplemento.

NEVES, S. da C.; RIBEIRO, L. M.; PIMENTA, M. A. S.; CUNHA, I. R. G. da.; GONÇALVES, M. A. P. Morfologia da semente e biometria do embrião de babaçu – *Orbignya oleífera* Burret (Arecaceae). In: X Fórum de Ensino. XI Seminário de Pesquisa, Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro, 2010.

OLIVEIRA, A. B.; MENDONÇA, M. S.; ARAÚJO, M. G. P. Aspectos anatômicos do embrião e desenvolvimento inicial de *Oenocarpus minor* Mart.: uma palmeira da Amazônia. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 20-24, 2008.

OLIVEIRA, A. N.; QUEIROZ, M. S. M.; RAMOS, M. B. P. Estudo morfológico de frutos e sementes de trefósia (*Tephrosia cândida* DC. – Papiloinoideae) na

Amazônia Central. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 193-199, 2000.

OLIVEIRA, J. P. de. Produção de mudas *in vitro* e ocorrência de microrganismos endofíticos em bananeiras da Amazônia Sul-Occidental. 2009. 122f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Pró-Reitoria de pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal do Acre, 2009.

OLIVEIRA, M. B.; ALVES, K. A.; LIMA, M. H. M.; ANDRADE, L. F.; IZZO NETO, A.; LONDE, L. M.; SOUZA, A. S. Efeito de concentrações de sacarose e de meio de cultura (8s) sobre a taxa de crescimento da mandioca variedade bgm 0043 (riqueza) conservadas *in vitro*. In: Embrapa Mandioca e Fruticultura – Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011. Búzios. Panorama atual e perspectivas do melhoramento de plantas no Brasil:[anais]. Búzios: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2011.

OLIVEIRA, T. G. S.; AQUINO, F. F.; AQUINO, C. F.; RODRIGUES-JUNIOR, A. G.; SOUZA, P. P. de; RIBEIRO, L. M. Biometria e teor de umidade de sementes de *Passiflora cincinnata* em Cerrado no norte de Minas Gerais. In: IX Congresso de Ecologia do Brasil. 2009. São Lourenço, Minas Gerais. Anais... São Lourenço, Minas Gerais. 2009.

PADILHA, J. H. D. Embriogênese somática em *Acrocomia aculeata* (Jaca) Lodd. Ex Mart. utilizando a técnica do TCL (“THIN CELL LAVER”). 68f. 2013. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2013.

PÁDUA, M. S. Germinação *in vitro*, indução e caracterização de massas pró-embriogênicas de dendezeiro (*Elaeis guinnensis* Jacq). 2012. 120f. Dissertação (Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, Área de Concentração em Biologia Molecular), Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais. 2012.

PALLET, D. **Perspectivas de valorização dos frutos amazônicos obtidos por extrativismo.** Colóquio SYAL, Montpellier, 2002. Disponível em: <http://www.cendotec.org.br/prosper/publicações/perspect.pdf>. Acesso em: 01 de jul. de 2014.

PAN, M. J.; VAN STANDEN, J. Use of charcoal in *in vitro* culture – A review. **Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 155-163, 1998.

PARROT, W. A.; MERLKE, S. A.; WILLIAMS, E. G. Somatic embryogenesis: potencial for use in propagation and gene transfer systems. In: MURRAY, D. R. *Advanced methods in plant breeding and biotechnology*. **Melkham Redwood**, p. 158-200, 1991.

PASQUAL, M. *Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura*. Lavras: UFLA/FAEPE, p. 74, 2001.

PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D. *Aplicações na propagação de plantas*. Lavras: UFLA/FAEPE, v. 81, 2001.

PEREIRA, A. R.; CARVALHO, S. P.; PASQUAL, M.; SANTOS, F. C. Embriogênese somática direta em explantes foliares de *Coffea arabica* cv. Acaia Cerrado: efeito de cinetina e ácido giberélico. **Ciência e Agroecologia**, v. 31, p. 332-336, 2007.

PEREIRA, J. E. S.; MACIEL, T. M. S.; COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, M. A. A. A germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*). **Ciência agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 251-256, 2006.

PEREIRA, R. de C. A. *Micropropagação, indução de calos, características anatômicas e monitoramento dos biomarcadores de *Uncaria tomentosa* (Willdenow ex Roemer e Shultes DC e *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin (Unha de gato). Tese (Dourado em Agronomia – Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, 2004.*

PEREIRA, S. S. C.; BEZERRA, V. S.; FERREIRA, L. A. M.; LUCIEN, V. G.; CARIM, M. de J. V.; GUEDES, M. C. Avaliações físico-químicas do fruto do murmuruzeiro. [i.e. murmuruzeiro]. (*Astrocaryum murumuru* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 2006, Varginha. Artigos... Lavras: UFLA, p. 576-580, 2006.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. **Guia Prático para a colheita e manejo de sementes florestais tropicais**. Rio de Janeiro: Idaco, 40 p. 2002.

PINHEIRO, P. R.; PEREIRA, M. D.; CAVALLARI, M. M.; SEVERIANO, R. L.; AZEVEDO, E. X. de. Biometria de sementes de palmeira babaçu. In: VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS. Recife, Pernambuco, 2014.

RABECHAULT, H.; CAS, S. Recherches sur la culture *in vitro* des embryos de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq. Var. *dura* Becc.). X. Culture de segments d'embryons. **Oleagineux**, v. 29, p. 73-78, 1974.

RAEMAKERS, C. J. J. M.; JACOBSEN, E.; VISSER, R. G. F. Secondary somatic embryogenesis and applications in plant breeding. **Euphytica**, v. 81, p. 93-107, 1995.

RENYING, Z.; GUIRONG, Q.; ZONGXIU, S. Transgene expression. In chinese sweetgum driven by the salt induced expressed promoter. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 88, p. 101-107, 2007.

REY, H. Y.; MROGINSKI, L. A. Somatic embryogenesis and plant regeneration in diploid and triploide *Arachis pintoi*. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 1, p. 152-155, 2006.

REZENDE, J. C. de; PASQUAL, M.; CARVALHO, S. P. de; PEREIRA, A. R.; VILLA, F. Influência do meio de cultura e contração de agar no crescimento e desenvolvimento de plântulas de café oriundas da embriogênese somática direta. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 21-26, 2008.

RIBEIRO, L. L. O.; LIMA, I. L. CUNHA, L. do S.; PACHECO, E. P.; SILVA, R. T. L. da. Biometria dos frutos de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) no município de Capitão Poço – Pará. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 10, n. 19, p. 2776, 2014.

RIBEIRO, L. M.; NEVES, S. da C.; SILVA, P. O.; ANDRADE, I. G. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. **Revista Ceres**, v. 58, n. 2, p. 133-139, 2011.

RIBEIRO, V. G.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; VICHATO, M.; SANÁBIO, D. Cultivo *in vitro* de embriões de Laranja Perá: concentrações do meio MS e sacarose. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 4, p. 429-434, 1998.

RODRIGUES, P. H. V.; FERREIRA, F. F.; AMBROSANO, G. M. B.; GATO, A. M. G. Propagação *in vitro* de tucumã do Amazonas. **Ciência Rural**, Santa Maria, online, 2012.

RODRIGUES, P. H. V.; FERREIRA, F. F.; AMBROSANO, G. M. B.; GATO, A. M. G. Propagação *in vitro* de tucumã do Amazonas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 1, p. 55-59, 2013.

ROCHA, C. B. R.; POTIGUARA, R. C. de V. Morfometria das fibras das folhas de *Astrocaryum murmurum* var. *murumuru* Mart. (ARECACEAE). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 4, p. 511-516, 2007.

RUIZ, R. R.; JARANA, C. F. S.; FLORES, C. L.; SIAS, C. R.; VÁSQUEZ, J. O.; ISUIZA, V. M.; SALINAS, H. L.; RUIZ, J. S.; NORIEGA, D. T.; RUIZ, F. M. P. Industrialización primaria del aguaje (*Mauritia flexuosa* L. f.) em Iquitos (Perú). **Folia Amazónica**, Iquitos, v. 12, n. 1-2, p. 107-121, 2001.

SAHRAWAT, K.; CHAND, S. Continuous somatic embryogenesis and plant regeneration from hypocotyl segments of *Psoralia corylifolia* Linn., na endangered and medicinally importante Fabaceae plant Ashok. **Current Science**, v. 81, n. 10, 2001.

SALDANHA, C. W.; MARTINS-CORDER, M. P.; STEINMACHER, D. A.; GUERRA, M. P. *In Vitro* morphogenesis in zygotic embryos and leaf sheaths of *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 6, p. 228-235, 2006.

SAMOSIR, Y. M. S.; GODWIN, I. D.; ADKINS, S. W.; DREW, R. A. A report on the culture of embryos of dwarf coconut, *Cocos nucifera* L. var. *nanan* *in vitro*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BIOTECHNOLOGY OF TROPICAL AND SUBTROPICAL SPECIES. Proceedings. **Acta Horticultural**, v. 30, p. 467-474, 1998.

SANÉ, D.; ABERLENC-BERTOSSI, F.; GASSAMA-DIA, Y. K.; SAGNA, M.; TROUSLOT, M. F.; DUVAL, V.; BORREL, A. Hystocytological Analysis of Callogenesis and Somatic Embryogenesis from Cell Suspensions of Date Palm (*Phoenix dactylifera*). **Annals of Botany**, v. 98, p. 301-308, 2006.

SANGALLI, A. Propagação, desenvolvimento, anatomia e preservação *ex situ* de *Jacaranda decurrens* subs. *Symmetrifoliolata* (Farias e Proença). 2008. 90f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados. 2008.

SANTANA-BUZZY, N.; LOPÉZ-PUC, G. BARREDO-POOL, F.; CANTO-FLICK, A.; BALAM-UC, E.; AVILÉS-VIÑAS, S.; SOLÍS-MARROQUÍN, D.; LEONA-GUZMÁN, C.; BELLO-BELLO, J. J.; GÓMEZ-UC, E.; MIJANGOS-CORTÉS, J. O. Ontogenesis of the Somatic Embryogenesis of Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). **HortScience**, v. 44, n. 1, p. 113-118, 2009.

SANTOS, J. G. dos; FERREIRA, S. A. do N. Germinação de diferentes progênies de *Astrocaryum murumuru* Mart. (Arecaceae). In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BOTÂNICA. Salvador, Bahia, 2014.

SANTOS, J. V. F. dos; MACHADO, W.; LIRA, F. F.; TAKAHASHI, S. A.; GUIMARÃES, M. de F.; LEAL, A. C. Caracterização biométrica de frutos diferentes de macaúba. In: III SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA. Londrina, Paraná, 2013.

SANTOS-MOURA, S. da S. Morfologia de frutos, diásporos, plântulas, mudas e cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. 2013. 83f. Dissertação (Mestrado em Produção Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco/Universidade Acadêmica de Garanhuns, Garanhuns, 2013.

SANTOS, R. P. Respostas morfofisiológicas de videiras cultivadas sob diferentes condições *in vitro*. 2007. 128f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

SATO, A. V.; MARIA, J.; SEDIYAMA, T. BORÉM, A.; CECON, P. R.; JUNQUEIRA, C. S. Influência do ácido abscísico na micropropagação da cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 5, p. 1235-1237, 2001.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; FORTES, G. R. L. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 9, p. 1035-1043, 2003.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; GUEDES, R. S.; SILVA, R. A.; FERMNO, J. R.; LUIS, Z. G.; FREITAS, E. O. Somatic embryogenesis and plant regeneration in açai palm (*Euterpe oleracea*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 109, p. 501-508, 2012.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; MACIEL, T. M. S.; COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, M. A. A. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*). **Cienc. Agrotec.**, v. 30, n. 2, Lavras, Minas Gerais, 2006.

SINGH, M.; KRIKORIAN, A. D. White's standard nutrient solution. **Ann. Bot.**, v. 47, p. 133-139, 1991.

SHARMA, D. R.; KUMARI, R.; CHOWDHURY, J. B. *In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues. **Euphytica**, Wageningen, v. 29, n. 1, p. 169-174, 1980.

SHARP, W. R.; SONDAHL, M.; CALDAS, L. S.; MARAFFA, S. B. The physiology on *in vitro* asexual embryogenesis. **Horticultural Review**, v. 2, p. 268-310, 1980.

SILVA, A. da S.; STARLING, M. de F. V.; SOUZA, M. C. Levantamento da família Arecaceae (Palmae) presente no campus da mata da PUC Minas, Coração Eucarístico, Belo Horizonte, Minas Gerais – Dados preliminares. In: 64º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2013.

SILVA, J. C. Macaúba: fonte de matéria-prima para os setores alimentícios, energéticos e industrial. Viçosa: DEF/UFV, p. 59, 2005.

SILVA, R. de C.; LUIS, Z. G.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Expressão genotípica de dendezeiros (*Elaeis guineensis* Jacq.) durante a formação de calos embriogênicos 1. . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4 SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, João Pessoa, Campina Grande: Embrapa Algodão, p. 260-264, 2010.

SILVA, S. P. **Frutas no Brasil**. São Paulo: Empresa das Artes, 233 p. 1996.

SILVA, V. dos S. Regeneração *in vitro* de embriões de *Cocos nucifera* L. 2002. 132f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, 2002.

SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; PASQUAL, M.; NUNES, C. F.; ARAÚJO, A. G. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, 2011.

SOMLEVA, M. M.; KAPCHINA, V.; ALEXIEVA, V.; GOLOVINSKY, E. Anticytokinin effects on *in vitro* response of embryogenic and nonembryogenic genotypes of *Dactylis glomerata* L. **Plant Growth Regulator**, v. 16, p. 109-112, 1995.

SOUZA, J. A. de; RAPOSO, A.; SOUSA, M. de M. M.; MIRANDA, E. M. de; SILVA, J. M. M. da; MAGALHÃES, V. B. **Manejo de murmuru (*Astrocaryum* spp.) para produção de frutos**. Rio Branco, Acre: Secretaria de Extrativismo e Produção Familiar, 30 p. 2004.

SODRÉ, J. B. Morfologia das palmeiras como meio de identificação e uso paisagístico. 2005. 65f. Monografia (Curso de Especialização em Plantas Ornamentais e Paisagismo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2005.

SPERA, M. R. N.; CUNHA, R.; TEIXEIRA, J. B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1567-1572, 2001.

STEINMACHER, D. A. Germinação *in vitro*, criopreservação e embriogênese somática em pupunha. 2005. 146f. Dissertação – Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 2005.

STEINMACHER, D. A.; CANGAHUALA-INOCENTE, G. C.; CLEMENT, C. R.; GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis from peach palm zygotic embryos. **In Vitro Cellular Development Biology – Plant**. DOI 10.1007/S11627-007-9032-y, 2007.

STEINMACHER, D. A.; CLEMENT, C. R.; GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis from immature peach palm inflorescence explants: towards development of an efficient protocol. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 89, p. 15-22, 2007.

STEINMACHER, D. A.; GUERRA, M. P. Embriogênese somática como ferramenta para o melhoramento e a conservação da pupunha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, Porto Seguro – BA, **Resumos....**, CD-ROOM, 2003.

STEINMACHER, D. A.; GUERRA, M. P.; SAARE-SURMINSKI, R.; LIEBERGI, R. A. Temporary immersion system improves *in vitro* regeneration of peach palm through secondary somatic embryogenesis. **Annals of Botany**, v. 108, p. 1463-1475, 2011.

SWATI, J.; ALOK, V.; KOTHARY, S. L.; JAIN, S.; VARSHNEY, A. Cereal Res. Commun, v. 19, p. 230-231, 2001.

SUMIANAH, G. H. M.; MAKKI, Y. M.; RUMNEY, T. G. Changes of three cultivars of date palms seed during germination. **Date Palm Journal**, v. 3, n. 21, p. 395-397, 1984.

SUTTON, B. Commercial delivery of genetic improvement to conifers plantations using somatic embryogenesis, INRA, EDP. **Sciences**, v. 59, p. 657-661, 2002.

SUZUKI, R. M.; MOREIRA, V. C.; NAKABASHI, M.; FERREIRA, W. M. Estudo da germinação e crescimento *in vitro* de *Hadrolaelia tenebrosa* (Rolfe) Chron e V.P. Castro (Orchidaceae), uma espécie da flora brasileira ameaçada de extinção. **Hoehnea**, v. 36, p. 657-666. 2009.

TABAI, S. A. Propagação da palmeira macaúba *Acrocomia aculeata* (Jack) Loddiges, através de métodos *in vitro*. 121f. Dissertação (Mestrado) CEBTEC-ESALQ. Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre, Artmed, p. 719, 2004.

TEIXEIRA, J. B.; SONDHAL, M. R.; KIRBY, E. G. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 34, p. 227-233, 1993.

TEIXEIRA, J. B.; SONDAHL, M. R.; KYRBY, E. G. Somatic embryogenesis from immature inflorescences of oil palm. **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 247-250, 1994.

THOMAS, T. L. Gene expression during plant embryogenesis and germination: Na overview. **Plant Cell**, v. 5, p. 1401-1410, 1993.

THUZAR, M.; VANAVICHIT, A.; TRAGOONRUG, S.; JANTASURIYARAT, C. Recloning of regenerated plantlets from elite oil palm (*Elaeis guineenses* jacq.) C.V. Tenera. **África Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 14761-14770, 2012.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; MOTOIFE, S. V. Efeito dos reguladores de crescimento dicamba e picloram na embriogênese somática em *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p. 417-426, 2007.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; (Ed.). Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCTP, EMBRAPA – CNPH, p. 433, 1990.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, EMBRAPA/CNPH, p. 864, 1998.

TRACZ, A. L. A. Propagação vegetativa de pupunheira (*Bactris gasipais* H. B. K.) a partir de perfilhos. 2005. 72f. (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2005.

VERDEIL, J. L.; HOCHER, V. Digestion and absorption of food in plants: a plant stomach. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 6, p. 280-281, 2003.

VERDEIL, J. L.; HUET, C.; GROSDÉMANGE, F.; BUFFARD-MOREL, J. Plant regeneration from cultured immature inflorescences of coconut (*Cocos nucifera* L.) evidence for somatic embryogenesis. **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 218-221, 1994.

VIEIRA, L. M.; PEREIRA, W. V. S.; OLIVEIRA, T. G.; AQUINO, F. F.; RIBEIRO, L. M.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O. Análise biométrica de frutos e sementes de *Passiflora setacea*. In: II SIMPÓSIO Internacional Savanas Tropicais. IX Simpósio Nacional Cerrado, ParlaMundi, Brasília – DF, 2008.

VIÑAS, M.; JIMÉNEZ, V. M. Factores que influyen em la embriogénesis somática *in vitro* de palmas (Arecaceae). **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 2, p. 229-242, 2011.

VON ARNOLD, S.; SABALA, I.; BOZHKO, P.; KYACUOR, J.; FILONOVA, L. Developmental pathways of somatic embryogenesis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 69, p. 233-249, 2002.

WANG, X.; NOLAN, K. E.; IRWANTO, R. R.; SHEAHAN, M. B.; ROSE, R. J. Ontogeny of embryogenic callus in *Medicago truncatula*: the fate of the pluripotent and totipotent stem cells. **Annals of Botany**, v. 107, p. 599-609, 2011.

WERNER, E. T.; MILANEZ, C. R. D.; MENGARDA, L. H. G.; VENDRAME, W. A.; CUZZUOL, G. R. F. Meios de cultura, regulares de crescimento e fontes de nitrogênio na regulação da calogênese do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Acta Botânica Brasílica**, v. 24, n. 4, p. 1046-1051, 2010.

WILLIAMS, E. G.; AHESWARAN, G. Somatic embryogenesis: factors influencing coordinated behaviour of cells as na embryogenic group. **Annals of Botany**, v. 57, p. 443-462, 1986.

WHITE, P. R. Further evidence on the significance of glycine, pyridoxine and nicotie acid in the nutrition of excised tomato roots. **American Journal of Botany**, v. 30, p. 33-36, 1943.

WU, H. C.; DU TOIT, E. S.; REINHARDT, C. F. A protocol for direct somatic embryogenesis of *Protea cynaroides* L. using zygotic embryos and cotyledon tissues. **Plant Cells, tissue and Organ Culture**, v. 89, p. 217-224, 2007.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura Clonal** (Princípios e técnicas). Viçosa, Minas Gerais. Ed. UFV, p. 272, 2009.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Nutrientes minerais, vitaminas, aminoácido e mio-inositol nos meios de cultura (MS, WPM e White) utilizados na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*).

Componente	Fórmula	MS	WPM	White
		(mg. L ⁻¹)		
Nitrato de Amônio	NH ₄ NO ₃	1.650,00	400,00	-
Nitrato de Potássio	KNO ₃	1.900,00	-	80,00
Nitrato de Cálcio	Ca(NO ₃) ₂	-	-	200,00
Nitrato de Cálcio tetrahidratado	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	-	556,00	-
Cloreto de Cálcio dihidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	440,00	96,00	-
Cloreto de Potássio	KCl	-	-	65,00
Sulfato de Magnésio anidro	MgSO ₄	-	-	360,00
Sulfato de Magnésio heptahidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	370,00	370,00	-
Sulfato de Potássio anidro	K ₂ SO ₄	-	990,0	-
Sulfato de Sódio anidro	Na ₂ SO ₄	-	-	200,00
Fosfato de Sódio monobásico	NaH ₂ PO ₄	-	-	16,50
Fosfato de Potássio monobásico	KH ₂ PO ₄	170,0	170,0	-
Ácido Bórico	H ₃ BO	6,20	6,20	1,50
Sulfato de manganês monohidratado	MnSO ₄ H ₂ O	22,3	22,3	5,04
Sulfato de Zinco heptahidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,60	8,6	2,67
Iodeto de Potássio	KI	0,83	-	0,75
Molibdato de sódio dihidratado	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25	0,25	-
Sulfato de cobre pentahidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	0,25	-
Cloreto de Cobalto hexahidratado	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	-	-
Sulfato férrico	Fe ₂ (SO ₄) ₃	-	-	2,50
Sulfato ferroso heptahidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,80	27,80	-
EDTA dissódico dihidratado	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,30	37,30	-
Glicina	Aminoácido	2,00	2,00	-
Ácido nicotínico	B3	0,50	0,50	-
Piridoxina-HCl	B6	0,50	0,50	-
Tiamina-HCl	B1	0,10	1,00	-
Mio-inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	100,00	100,00	-