

## GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES DE COQUINHO-AZEDO [*BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC. (ARECACEAE)] OBTIDOS DE FRUTOS COM DIFERENTES GRAUS DE MATURAÇÃO

SILMA DA CONCEIÇÃO NEVES

LEONARDO MONTEIRO RIBEIRO

PRISCILA OLIVEIRA SILVA

ITAINA GONÇALVES ANDRADE

Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Montes Claros, Av. Dr. Ruy Braga, s.n., Vila Mauricéia, Montes Claros, 39401-089, Minas Gerais, Brasil; e-mail: silma\_neves@yahoo.com.br

**RESUMO:** Apesar da importância do grupo das palmeiras, estudos sobre o desenvolvimento de seus frutos e embriões são incipientes. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de correlacionar os teores de água das estruturas do fruto durante a maturação e avaliar o efeito do estágio de maturação da semente sobre a germinação *in vitro* de embriões de coquinho-azedo [*Butia capitata* (Mart.) Becc. (Arecaceae)]. Foram coletados quatro cachos em diferentes estádios de maturação em uma população natural. Foram determinados umidade da semente, mesocarpo associado ao epicarpo e endocarpo e calculada a correlação entre as variáveis. Embriões foram retirados das sementes e cultivados *in vitro*, em meio Murashige & Skoog (MS) suplementado com vitaminas, mio-inositol, caseína hidrolisada, carvão ativado, sacarose e ágar. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado e foram considerados como tratamentos os teores de água das sementes de cada cacho (20,9%, 34,8%, 48,9% e 56,7%). Após 30 dias de cultivo, foram avaliados o nível de oxidação, a germinação e o desenvolvimento das plântulas. Observou-se correlação positiva entre o teor de água do endocarpo e da semente e negativa entre o teor de água do mesocarpo e da semente. Foram observados diminuição da oxidação e maiores níveis de germinação de embriões e desenvolvimento de plântulas com o aumento da maturação das sementes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Butia capitata* (Mart.) Becc. (Arecaceae), cultivo de embrião, teor de água.

### ***IN VITRO* GERMINATION OF *BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC. (ARECACEAE) EMBRYOS OBTAINED FROM FRUITS AT DIFFERENT STAGES OF MATURITY**

**ABSTRACT:** Despite the importance of the palm group, studies on the development of their fruits and embryos are incipient. This study aimed at correlating the fruit structure moisture during ripening and evaluate the effect of seed maturity on *in vitro* germination of *Butia capitata* (Mart.) Becc. (Arecaceae) embryos. We collected four bunches at different stages of maturity in a natural population, determined seed moisture, mesocarp associated with epicarp and endocarp and calculated the correlation between the variables. Embryos were removed from seeds and cultivated *in vitro* on Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with vitamins, myo-inositol, hydrolyzed casein, activated charcoal, sucrose, and agar. A completely randomized design was used and the water contents of seeds from each bunch (20.9%, 34.8%, 48.9%, and 56.7%) were considered as treatments. After 30 days of culture, we assessed the level of oxidation, germination, and seedling development. We detected positive correlation between the moisture content of the endocarp and the seed and negative correlation between the moisture content of the mesocarp and the seed. We observed a decrease in oxidation and higher levels of embryo germination and seedling development as seed maturation increased.

**KEY WORDS:** *Butia capitata* (Mart.) Becc. (Arecaceae), embryo culture, water content.

## INTRODUÇÃO

**B***utia capitata* (Mart.) Becc. (Areceaceae), conhecida como coquinho-azedo, ocorre naturalmente nos estados da Bahia, Goiás e Minas Gerais no bioma Cerrado, geralmente em terrenos arenosos (Lorenzi et al., 2004; Rivas & Barilani, 2004). A planta, que possui potencial ornamental (Lorenzi et al., 2004), é explorada para venda e consumo dos frutos *in natura* e/ou de seus produtos processados (sucos, polpa e sorvete), representando importante fonte de renda para populações rurais (Faria et al., 2008; Mercadante-Simões et al., 2006). A espécie encontra-se ameaçada pelo desmatamento, extrativismo predatório e consumo de suas flores e frutos por bovinos e equinos, o que limita o estabelecimento de bancos de sementes (Mercadante-Simões et al., 2006). Por outro lado, a pronunciada dormência das sementes dificulta a produção de mudas visando a conservação e a implantação de cultivos (Broschat, 1998; Lorenzi et al., 2004).

As dificuldades do processo reprodutivo são citadas entre os principais fatores limitantes para a utilização sustentável das palmeiras (Hartmann et al., 1997; Lorenzi, 2006; Melo, 2000), uma vez que a germinação normalmente ocorre lentamente e suas sementes apresentam taxa média de germinação inferior a 20% (Meerow, 2004). A cultura de embriões isolados é utilizada para a propagação de espécies que apresentam problemas relacionados à germinação (García et al., 2002; Tzec-Sima et al., 2006) e pode contribuir em estudos sobre desenvolvimento embrionário, germinação, superação de dormência e viabilidade das sementes (Hu & Ferreira, 1998). No caso das palmeiras, a cultura de embriões pode contribuir para a propagação e em programas de melhoramento genético, que são demorados e complexos em razão do longo ciclo e da ausência de métodos eficientes de propagação vegetativa (Ledo et al., 2001).

Entre os fatores que afetam o sucesso da cultura de embriões está o estágio de maturação, sabendo-se que a cultura de embriões imaturos pode ser viável para várias espécies (Hu & Ferreira, 1998). O desenvolvimento dos embriões ocorre concomitantemente ao desen-

volvimento do fruto e da semente, embora a relação entre as fases possa ser muito variável em função da espécie (Cocucci & Mariath, 2004; Hartmann et al., 1997). O teor de água das sementes pode ser usado como parâmetro indicativo da fase de maturação, uma vez que a alocação de substâncias para os tecidos de reserva resulta no decréscimo progressivo no conteúdo de água até a abscisão (Bewley & Black, 1994; Cardoso, 2004).

Estudos envolvendo palmeiras têm evidenciado bons resultados no cultivo *in vitro* a partir da utilização de embriões oriundos de frutos maduros (Ledo et al., 2001; Melo, 2000). Porém, Tabai (1992) observou a germinação *in vitro* de embriões retirados tanto de frutos maduros quanto imaturos de macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.] e Pereira et al. (2006) comprovaram que embriões provenientes de frutos imaturos de mururu (*Astrocaryum ulei* Burret) apresentaram melhores índices de germinação quando comparados a embriões oriundos de frutos maduros.

Apesar da importância do grupo, estudos sobre o desenvolvimento de frutos e de embriões de palmeiras abrangem poucas espécies (Orozco-Segovia et al., 2003). Assim, neste trabalho, objetivou-se correlacionar os teores de água das estruturas do fruto durante a maturação e avaliar o efeito do teor de água das sementes sobre a germinação *in vitro* de embriões de *B. capitata*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de *B. capitata* foram coletados de uma população localizada em uma área de Cerrado *sensu stricto*, no município de Montes Claros, Minas Gerais. Para avaliar o estágio de maturação das estruturas dos frutos, foram coletados quatro cachos em diferentes condições. Um dos cachos apresentava-se com frutos de cor amarelada uniforme e no ponto de colheita (abscisão natural), enquanto os outros apresentavam frutos verdes e imaturos. Dentro de cada cacho, os frutos possuíam coloração e dimensão aproximadamente homogênea. Quatro amostras de dez frutos por cacho foram retiradas, identificadas e destinadas à avaliação do teor de água no Laboratório de

Micropropagação da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), durante os meses de agosto a outubro de 2008. Procedeu-se à retirada do mesocarpo associado ao epicarpo com o auxílio de estiletos e as sementes foram extraídas do endocarpo, após a quebra deste, com o auxílio de um torno manual de bancada. Para uniformização das mensurações, o mesocarpo associado ao epicarpo foi fatiado em 10 a 12 partes, o endocarpo foi partido em duas ou três partes e as sementes foram seccionadas em quatro partes. Para cada fruto, determinaram-se, separadamente, as massas frescas do mesocarpo associado ao epicarpo, endocarpo e semente. Após secagem em estufa a 104°C por 24 h (Brasil, 1992), as massas secas das estruturas de cada fruto foram medidas separadamente, sendo calculado o teor de água. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e ao teste de Levene para avaliação da condição de homogeneidade das variâncias (Sas Institute, 1990; Zar, 1996). Utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson para a avaliação da relação entre as variáveis, considerando-se os frutos de todos os cachos, e a análise de variância para a avaliação da divergência dos cachos em relação ao teor de água dos componentes dos frutos (Sas Institute, 1990; Zimmermann, 2004).

Para a avaliação do efeito da maturação das sementes sobre o cultivo *in vitro* de embriões, os frutos restantes foram retirados separadamente dos cachos e despolpados manualmente. As sementes foram retiradas dos pirênios, após a quebra do endocarpo, com o auxílio de torno manual e desinfestadas em solução de 6% de hipoclorito de sódio por 10 min. Em câmara de fluxo laminar, os embriões foram extraídos com o auxílio de estiletos e dispostos em solução de 100 mg.L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico para evitar oxidação (Melo, 2000). Após desinfestação em 0,5% de cloro por 10 min e posterior lavagem por três vezes em água destilada autoclavada, os embriões foram inoculados em tubos de ensaio, com dimensões de 7,5 cm x 1 cm, contendo 2 mL do meio: sais do meio Murashige & Skoog (MS) em 75% da concentração original, 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de tiamina, 1 mg.L<sup>-1</sup> de piridoxina, 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido nicotínico, 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 0,5 g.L<sup>-1</sup> de caseína

hidrolisada, 3 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado para 5,7 (Sittolin & Cunha, 1987). Os teores de água das sementes do cacho, determinados anteriormente, foram utilizados como parâmetros indicativos do estágio de maturação. O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (teores de água da semente) e seis a dez repetições (devido à insuficiência de frutos em três cachos) em dez tubos com um embrião em cada. Depois de inoculados os embriões, os tubos foram envoltos em papel alumínio e mantidos em ausência de luz, em germinador, à temperatura de 30°C.

Aos 30 dias de cultivo, foram realizadas avaliações da ocorrência de contaminações fúngica e bacteriana, oxidação e parâmetros relacionados ao desenvolvimento das plântulas (alongamento do pecíolo cotiledonar, emissão de bainhas foliares e emissão da raiz primária). As contaminações fúngica e bacteriana foram avaliadas visualmente utilizando-se a morfologia das colônias para diferenciação. A oxidação foi avaliada pela constatação do escurecimento de estruturas do embrião em associação à ausência de seu desenvolvimento. O alongamento foi detectado pelo aumento de 50% no comprimento do embrião, sendo este indicativo da germinação. Os dados foram tomados por contagem do número de embriões ou plântulas apresentando o evento e transformados em percentuais, que foram, a seguir, transformados em arco seno de  $(x/100)^{0,5}$  para comparações. Avaliou-se a aderência à distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade das variâncias foi verificada pelo teste de Levene (Sas Institute, 1990; Zar, 1996). Para cada variável, utilizou-se análise de variância com compensação para repetições desiguais e, uma vez constatadas diferenças significativas entre os tratamentos por meio do teste F, realizou-se análise de regressão para o ajuste das curvas explicativas, com definição do grau das equações polinomiais pelo método dos contrastes ortogonais (Sas Institute, 1990; Zar, 1996). Todas as análises foram realizadas por meio do programa estatístico SAS System for Windows Version 8 (Sas Institute, 1990).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes aos teores de água das estruturas dos frutos apresentaram tendência de diminuição da variação com a maturação (Tabela 1). Os dados referentes aos frutos maduros (cacho 1) evidenciaram que a maturação ocorreu uniformemente no cacho. Mercadante-Simões et al. (2006) observaram, em população natural de *B. capitata*, a maturação sincronizada das flores pistiladas da inflorescência e o início do desenvolvimento dos frutos poucos dias após a antese, o que comprova que o período de polinização é restrito, condição que favorece a maturação uniforme dos frutos em cada cacho. O teor de água médio de 20,93% observado nas sementes de frutos maduros é indicativo preliminar de que a espécie não apresenta comportamento recalcitrante (Orozco-Segovia et al., 2003), o que é esperado em espécies provenientes de climas secos (Bewley & Black, 1994; Hartmann et al., 1997).

Os teores de água da semente, endocarpo e mesocarpo associado ao epicarpo apresentaram distribuição normal com valores de P do teste de Kolmogorov-Smirnov, respectivamente, iguais a 0,102, 0,150 e 0,150. Constatou-se homogeneidade das variâncias por meio do teste de Levene, com valores de P iguais a 0,1471, 0,2028 e 0,5089, respectivamente, para as mesmas variáveis. Na análise de variância, detectaram-se diferenças significativas entre os cachos em relação ao teor de água do mesocarpo associado ao epicarpo, endocarpo e semente ( $P < 0,0001$  para todas as variáveis). Quando foram considerados os frutos de todos os cachos em conjunto, o teor de água da semente correlacionou-se significativamente com o teor de água do endocarpo (0,66550;  $P < 0,0001$ ) e do mesocarpo associado ao epicarpo (-0,66262;  $P < 0,0001$ ).

A desidratação do endocarpo associou-se à desidratação da semente, enquanto o teor de água do mesocarpo aumentou com a desidratação da semente. Esses comportamentos

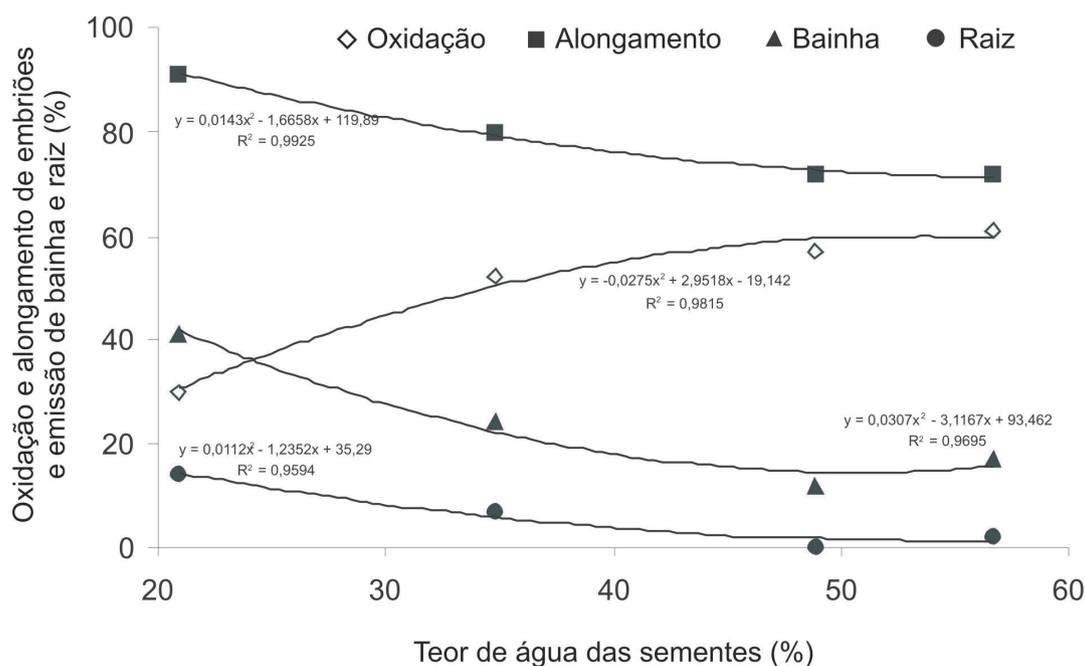
**Tabela 1** – Avaliação da umidade da semente, endocarpo e mesocarpo associado ao epicarpo de *Butia capitata* (Mart.) Becc. obtida em quatro cachos em diferentes estádios de maturação (% de água).

Cacho	Variável	Média	Desvio padrão	Mínima	Máxima	Varição
1	Semente	20,93	2,16	17,75	22,43	4,68
	Endocarpo	17,81	1,09	16,88	18,90	2,02
	Mesocarpo + epicarpo	83,11	0,37	82,77	83,61	0,84
2	Semente	34,84	4,51	28,25	42,41	14,16
	Endocarpo	17,77	1,36	16,17	20,96	4,79
	Mesocarpo + epicarpo	80,77	0,54	79,99	81,70	1,71
3	Semente	48,96	4,20	45,21	56,79	11,58
	Endocarpo	20,69	1,10	19,42	22,08	2,66
	Mesocarpo + epicarpo	77,46	0,70	76,92	78,68	1,76
4	Semente	57,35	3,41	54,78	68,13	13,35
	Endocarpo	21,39	2,43	15,89	25,56	9,67
	Mesocarpo + epicarpo	75,09	1,60	73,24	77,93	4,69
Total	Semente	46,55	13,63	17,74	68,12	50,38
	Endocarpo	19,98	2,51	15,89	25,55	9,66
	Mesocarpo + epicarpo	79,68	1,96	73,24	83,61	10,37

estão, possivelmente, relacionados à função ecológica das estruturas. Orozco-Segovia et al. (2003) afirmaram que, em diásporos de palmeiras, na maioria dos casos, o mesocarpo está associado à recompensa a dispersores, enquanto o endocarpo, muitas vezes pétreo, protege a semente do consumo pelos dispersores e predadores. Assim, na semente madura de *B. capitata* (cacho 1), o mesocarpo mais tenro facilita o consumo pelos dispersores, enquanto o endocarpo mais rígido apresenta maior capacidade de proteção da semente.

A variação da umidade foi aproximadamente cinco vezes maior na semente do que no endocarpo e no mesocarpo associado ao epicarpo (Tabela 1), considerando-se os dados de todos os cachos, demonstrando que, apesar da correlação significativa entre as variáveis, o teor de água do mesocarpo não é um bom indicador da maturidade da semente. Iossi et al. (2006) descreveram situação diferente para a palmeira *Phoenix roebelenii* O'Brien, na qual evidenciaram que teores de água de 56,5% e 36,8% para frutos e sementes, respectivamente, podem ser usados como parâmetros indicadores do ponto de maturidade fisiológica da semente.

No experimento envolvendo o cultivo *in vitro* de embriões, não houve contaminação bacteriana e a média da contaminação fúngica foi de 1,87%, o que indica que a desinfestação foi adequada. Constatou-se que os dados avaliados apresentaram distribuição normal ( $P > 0,15$ ) para todas as variáveis e que as variâncias mostraram-se homogêneas, sendo o valor de  $P$  do teste de Levene igual a 0,5838 para oxidação, 0,7393 para alongamento, 0,981 para emissão de bainha e 0,077 para emissão de raízes. Observou-se que a oxidação de embriões e de plântulas aumentou com o teor de água das sementes ( $P = 0,0339$ ) (Figura 1). A oxidação do explante é considerada um dos aspectos mais críticos relacionados com a cultura de embriões de palmeiras, sendo atribuída à liberação e à oxidação de compostos fenólicos que inibem o crescimento, conforme constatou Melo (2000) em trabalho com o cultivo *in vitro* de embriões de *Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc. No presente trabalho, evidenciou-se que as substâncias oxidáveis, presentes em maior concentração em embriões oriundos de sementes imaturas, contribuíram para restringir a germinação e o desenvolvimento das plântulas.



**Figura 1** – Avaliação do efeito do teor de água da semente sobre o percentual de oxidação e alongamento de embriões e emissão de bainha e raiz em plântulas de *Butia capitata* (Mart.) Becc.

O nível de alongamento do pecíolo cotiledonar aumentou com a redução do teor de água das sementes ( $P = 0,0003$ ). O alongamento é responsável pela protrusão do pecíolo na semente (Aguiar & Mendonça, 2002; Charlo et al., 2006; Henderson, 2006) e, portanto, indicador morfológico da germinação (Bewley & Black, 1994). O desenvolvimento de plântulas também foi influenciado positivamente pela desidratação das sementes, o que pode ser comprovado pelo efeito significativo dos tratamentos sobre a emissão de bainhas foliares ( $P = 0,001$ ) e de raízes ( $P = 0,0007$ ) (Figura 1).

Um dos fatores que podem influenciar a germinação *in vitro* de embriões é o grau de diferenciação dos tecidos, que é menor em embriões imaturos (Cocucci & Mariath, 2004; Hartmann et al., 1997). Hu & Ferreira (1998) afirmaram que embriões imaturos podem apresentar capacidade de germinar quando cultivados, porém, demandam maior fornecimento de substâncias orgânicas, especialmente sacarose. No presente trabalho, constatou-se que ocorreram germinação e desenvolvimento de plântulas a partir de embriões oriundos de sementes imaturas; entretanto, a maturação da semente e a conseqüente diferenciação dos tecidos embrionários favoreceram os processos.

Outro fator que pode afetar a capacidade germinativa de embriões é a dormência embrionária, que se estabelece durante a fase de dessecação, antes da abscisão, e que pode estar relacionada à presença de substâncias inibidoras (Bewley & Black, 1994). Hartmann et al. (1997) consideraram que, quando ocorre a dormência embrionária profunda, embriões isolados não germinam, mesmo quando cultivados em meios nutritivos e em condições adequadas.

Em estudos envolvendo o cultivo *in vitro* de embriões zigóticos da palmeira amazônica murmurú (*A. ulei* Burret), Pereira et al. (2006) concluíram que embriões provenientes de frutos imaturos apresentaram maior porcentagem de germinação do que aqueles oriundos de frutos maduros. Neste estudo, constatamos comportamento contrário em *B. capitata*, com maiores níveis de alongamento e de desenvolvimento de plântulas observados com o avanço da maturação da semente. Considerando-se os expressivos níveis de alongamento do pecíolo

cotiledonar observados em plântulas provenientes de sementes maduras, é possível concluir que a pronunciada dormência observada em sementes da espécie (Broschat, 1998) não está relacionada à dormência embrionária profunda.

## CONCLUSÕES

Verificou-se que ocorre variação diferencial nos teores de água das estruturas dos frutos de *B. capitata* (Mart.) Becc. ao longo da maturação, com desidratação da semente e do endocarpo e aumento do teor de água do mesocarpo associado ao epicarpo.

Também observou-se que a germinação *in vitro* de embriões de *B. capitata* e o desenvolvimento de plântulas são favorecidos pela maturação das sementes, com redução no nível de oxidação e aumento no alongamento do pecíolo cotiledonar, emissão de raízes e de bainhas foliares.

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG, pela concessão de bolsa PCRH ao segundo autor. Ao Professor Sérgio Avelino Mota Nobre, pelo uso de instalações e equipamentos do Laboratório de Controle Biológico de Micro-organismos da Unimontes.

## REFERÊNCIAS

- Aguiar, M. O. & M. S. Mendonça. 2002. Aspectos morfo-anatômicos do embrião de *Euterpe precatoria* Mart. durante o processo germinativo. Acta Bot. Bras. 16: 241-249.
- Bewley, J. D. & M. Black. 1994. Seeds: physiology of development and germination. Plenum Press, New York, 445 p.
- Brasil. 1992. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, DF, 365 p.
- Broschat, T. K. 1998. Endocarp removal enhances *Butia capitata* (Mart.) Becc. (Pindo Palm) seed germination. HortTechnology 8: 586-587.
- Cardoso, V. J. M. 2004. Germinação, p. 386-408. In: G. B. Kerbauy (Ed), Fisiologia vegetal. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

- Charlo, H. C. O., F. V. Môro, V. L. Silva, B. M. S. Silva & J. R. Môro.** 2006. Aspectos morfológicos, germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de *Archontophoenix alexandrae* (F. Mueller) H. Wendl. e Drude (Arecaceae) em diferentes substratos. *Rev. Árvore* 30: 933-940.
- Cocucci, A. E. & J. E. A. Mariath.** 2004. Gametogênese, fecundação, seleção do gametófito mais apto, embriogênese e diásporo maduro, p. 15-30. In: A. G. Ferreira & Borghetti, F. (Eds), *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre, Artmed.
- Faria, J. P., D. B. Arellano, R. Grimaldi, L. C. R. Silva, R. F. Vieira, D. B. da Silva & T. S. Agostini-Costa.** 2008. Caracterização química da amêndoa de coquinho-azedo (*Butia capitata* var. *capitata*). *Rev. Bras. Frutic.* 30: 549-552.
- García, J. L., Troncoso, J., Sarmiento, R. & Troncoso, A.** 2002. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 69: 95-100.
- Hartmann, H. T. Kester, D. E.; Davies JR., F. T.; Geneve, R. L.** 1997. *Plant propagation: principles and practices*. 6. ed. Prentice-Hall, New Jersey, 770 p.
- Henderson, F. M.** 2006. Morphology and anatomy of palm seedlings. *The Bot. Rev.* 72: 273-329.
- Hu, C. Y. & A. G. Ferreira.** 1998. Cultura de embriões, p. 371-393. In: A. C. Torres, L. S. Caldas & J. A. Buso (Eds), *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília, DF, Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq. v. 1.
- Iossi, E., F. V. Moro & R. Sader.** 2006. Seed anatomy and germination of *Phoenix roebelenii* O'Brien (Arecaceae). *Rev. Bras. Sementes* 28: 121-128.
- Ledo, A. S., O. A. Lameira, A. K. Benbadis, I. C. Menezes, C. A. S. Ledo & M. S. P. Oliveira.** 2001. Cultura *in vitro* de embriões zigóticos de açazeiro. *Rev. Bras. Frutic.* 23: 468-472.
- Lorenzi, G. M. A. C.** 2006. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. – Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Lorenzi, H., H. M. Souza, J. T. M. Costa, L. S. C. Cerqueira & E. Ferreira.** 2004. Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 416 p.
- Meerow, A. W.** 2004. Palm seed germination. University of Florida, IFAS Extension, Fort Lauderdale. (Bulletin, 274). Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/EP/EP23800.pdf>>.
- Melo, B.** 2000. Cultivo de embriões *in vitro* da guarirobeira [*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.]. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Mercadante-Simões, M. O., R. S. Fonseca, L. M. Ribeiro & Y. R. Nunes.** 2006. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae) em uma área de cerrado no norte de Minas Gerais. *Unimontes Cient.* 8: 143-149.
- Orozco-Segovia, A., A. I. Batis, M. Rojas-Aréchiga & A. Mendoza.** 2003. Seed biology of palms: a review. *Palms* 47: 79-94.
- Pereira, J. E. S., T. M. S. Maciel, F. H. S. Costa & M. A. A. Pereira.** 2006. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*). *Ciênc. Agrotec.* 30: 251-256.
- Rivas, M. & A. Barilani.** 2004. Diversidad, potencial productivo y reproductivo de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. de Uruguay. *Agrociência*, 8: 11-20.
- SAS Institute.** 1990. SAS user's guide: statistics version. Statistical Analysis System Institute, Cary, 846 p.
- Sittolin, I. M. & L. H. S. Cunha.** 1987. Cultura de embriões de macaúba (*Acrocomia* sp) *in vitro* visando a implantação de um banco ativo de germoplasma. In: Simpósio Nacional de Cultura de Tecidos Vegetais, Brasília, DF. Resumos.
- Tabai, S. A.** 1992. Propagação da palmeira macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges através de métodos *in vitro*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

**Tzec-Sima, M. A., R. Orellana & M. L. Robert.** 2006. *In vitro* rescue of isolated embryos of *Bactris major* Jacq. and *Desmoncus orthacanthos* Mart., potentially useful native palms from the Yucatan Península (Mexico). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 42: 54-58.

**Zar, J. H.** 1996. *Biostatistical analysis*. 3. ed. Prentice-Hall, New Jersey.

**Zimmermann, F. J. P.** 2004. *Estatística aplicada à pesquisa agrícola*. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, 402 p.

Recebido em 12/XI/2009

Aceito em 23/VI/2010