

Aplicação de análogo de brassinosteróide (Biobras 16[®]) sobre a germinação e crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bociuíva

Application of analogue brassinosteróide (Biobras 16[®]) germination and growth *in vitro* culture of zygotic embryos and acclimatization of bociuíva

Elis Borcioni^{I*} Raquel Rejane Bonato Negrelle^{II}

RESUMO

Apresentam-se resultados de pesquisa experimental que avaliou o crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bociuíva (*Acrocomia aculeata*) cultivadas em diferentes concentrações (0,0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1mg L⁻¹) de análogo de brassinosteróide (Biobras 16[®]). O trabalho buscou verificar se a aplicação de Biobras 16[®] influencia positivamente na taxa de germinação dos embriões zigóticos de *Acrocomia aculeata* e se promove o crescimento e desenvolvimento das plântulas e, conseqüentemente, afeta o número de plântulas normais. A aplicação de Biobras 16[®] não promoveu acréscimo no percentual de germinação, porém, estimulou a formação de plântulas normais. O efeito positivo de Biobras 16[®] foi observado apenas na primeira fase, não sendo observado nas demais fases de crescimento avaliadas.

Palavras-chave: *Acrocomia aculeata*, *arecaceae*, cultivo de embriões zigóticos, germinação, regulador vegetal.

ABSTRACT

The results of an experimental research evaluating the *in vitro* growth of zygotic embryos and acclimatization of bociuíva (*Acrocomia aculeata*) grown under different concentrations (0.00, 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 and 1mg. L⁻¹) of a brassinosteroid analogue (Biobras 16[®]) are presented. The objective was to determine whether the application of 16 Biobras[®] positively affects the germination of zygotic embryos of *Acrocomia aculeata* and promotes the growth and development of seedlings and thereby affects the number of normal seedlings. The application of Biobras 16[®] did not promote an increase in the percentage of germination but stimulated the formation of normal seedlings. The positive

effect of Biobras 16[®] was observed only in the first phase, not observed in other growth stages evaluated.

Key words: *Acrocomia aculeata*, *arecaceae*, zygotic embryos cultivation, germination, growth regulator.

INTRODUÇÃO

A palmeira bociuíva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Martius] tem despertado interesse devido às suas potencialidades como oleaginosa, podendo ultrapassar quatro mil litros de óleo por hectare (NUCCI, 2007), além de ser resistente à seca (HIANE et al., 2005; TEIXEIRA, 2005). Porém, a propagação via sementes é limitada devido à ocorrência de dormência física, causada pela impermeabilidade dos tecidos da semente ou do fruto (TEIXEIRA, 2005; BANDEIRA, 2008) que, pelo elevado teor de óleo (HIANE et al., 2005), são também susceptíveis a deterioração (MARCOS FILHO, 2005), retardando, dessa forma, a germinação e produção de mudas.

Em vista disso, uma das potenciais soluções seria o cultivo de embriões zigóticos *in vitro*. Essa técnica consiste no isolamento e cultivo asséptico de embriões em meio de cultura visando a superar a dormência de sementes e ou viabilizar para que os embriões sejam utilizados como fonte de explantes (HU & FERREIRA, 1998). Resultados satisfatórios utilizando essa técnica têm sido reportados em

^IPrograma de Pós-graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná (UFPR), 80035-050, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: borcioni@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba, PR, Brasil.

trabalhos com palmeiras (PEREIRA et al., 2006; STEINMACHER et al., 2007; LEDO et al., 2007; BANDEIRA, 2008; SOARES et al., 2011).

Com relação à bocaiuva, diversas pesquisas já demonstraram a viabilidade do cultivo *in vitro*. SITTOLIN & CUNHA (1987) utilizaram esta técnica para produção de mudas de bocaiuva visando à implantação de um banco de germoplasma, com o propósito de possibilitar o acompanhamento e avaliação do potencial da cultura para produção do óleo. TABAI et al. (1990) utilizaram a cultura de embriões zigóticos para reduzir o tempo de germinação das sementes dessa mesma espécie. BANDEIRA (2008) observou que os embriões de bocaiuva germinaram com facilidade quando isolados da semente e cultivados *in vitro*, existindo a possibilidade de a dormência estar associada à presença de substâncias inibidoras na semente ou a outros fatores. Porém, RIBEIRO et al. (2010) observaram que essas substâncias inibidoras das estruturas adjacentes ao embrião não influenciam na germinação *in vitro* de bocaiuva. Em relação à composição do meio de cultura, SOARES et al. (2011) obtiveram a maior porcentagem de germinação de embriões, aos 60 dias, em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), na composição e concentração original, sem utilização de regulador vegetal.

Adicionalmente, a produção de mudas por esta via pode ser otimizada a partir da utilização de reguladores vegetais LEDO et al. (2007), entretanto, pouco se sabe sobre o uso dessas substâncias no desenvolvimento de plantas de bocaiuva cultivadas *in vitro*. Nesse contexto, salienta-se o uso de brassinosteróides que produzem efeitos morfológicos e fisiológicos no desenvolvimento vegetal, sendo conhecidos como uma nova classe de hormônios vegetais TAIZ & ZEIGER, (2008). São ativos em pequenas concentrações, apresentam baixa toxicidade, quando utilizados nas concentrações recomendadas, estimulam e ou inibem o crescimento radicular (MÜSSIG et al. (2003); BAO et al. (2004) e MAZORRA & NUÑEZ (2008)), promovem a divisão e alongamento celular (GROVE et al. (1979) e CLOUSE & SASSE (1998)), podendo interagir com outros hormônios ou agir de forma similar a estes. Além disso, proporcionam o aumento no rendimento e produção de biomassa, aceleram o processo de maturação das plantas (MAZORRA & NUÑEZ (2008)), aumentam o percentual de germinação de sementes, florescimento, retardamento da abscisão de folhas (RAO et al., 2002), aumentam a resistência ao ataque de pragas e doenças, bem como aumentam a tolerância das plantas aos estresses abióticos (KRISHNA, 2003; NUÑEZ et al., 2006). A presença de brassinosteróides é ampla no reino

vegetal e, desde sua identificação, estudos têm verificado a possibilidade de uso em cultivos agrícolas (MANDAVA et al., 1988) e compostos análogos têm sido sintetizados para uso comercial (CORTES et al., 2003).

Dentre os vários análogos de brassinosteróides que vem sendo avaliados quanto à sua eficácia na promoção do crescimento vegetal, inclui-se o Biobras 16[®], uma formulação comercial cuja substância ativa é um análogo de brassinosteróide espirostano polihidroxilado de fórmula $C_{27}H_{42}O_5$. Esse produto pode ser aplicado via aspersão ou adicionado ao meio de cultura (COLL et al., 1995).

Como os resultados com a aplicação de brassinosteróides e seus respectivos análogos, especificamente Biobras 16[®], não são homogêneos para todas as espécies testadas, são utilizados de maneira diferenciada tanto em estudos de germinação, enraizamento de estacas, embriogênese somática. Especificamente, visou-se avaliar diferentes concentrações de Biobras 16[®] na germinação dos embriões zigóticos de bocaiuva e na promoção do crescimento e desenvolvimento de plântulas normais.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Micropropagação de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

Embriões zigóticos obtidos de frutos maduros de bocaiuva foram utilizados como fonte de explantes. Os frutos foram coletados em uma população natural, existente na Fazenda Campanário, no município de Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes coordenadas: 20°22'30" S, 56°32'31" W e 180m de altitude.

Os frutos foram processados, removendo-se manualmente o epicarpo. Mecanicamente, por meio de martelo, procedeu-se à quebra do endocarpo para obtenção da amêndoa e, posterior, retirada do embrião. As amêndoas foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio laboratorial (10 a 12%) na concentração de 1% por 15 minutos, dentro da câmara de fluxo laminar, em constante agitação. Após, foram realizadas três lavagens com água deionizada e autoclavada e, em seguida, com o auxílio de pinças e bisturis, foram retirados os embriões zigóticos.

Antes de serem transferidos para o meio de cultivo, os embriões permaneceram embebidos em água deionizada e autoclavada até que os embriões fossem extraídos de todas as amêndoas. Posteriormente, foram

imersos em hipoclorito de sódio laboratorial na concentração de 0,5% acrescido de 0,1ml do surfactante Tween 20[®] durante 10 minutos e, a seguir, foram lavados em água deionizada e autoclavada.

Em câmara de fluxo laminar, os embriões zigóticos foram inoculados individualmente em tubos de ensaio (25x150mm) contendo 20ml de meio de cultura. Estes foram acondicionados em sala de crescimento, em ausência de luz e em temperatura de 25±2°C, nos primeiros 30 dias. Posteriormente, as plântulas foram cultivadas com fotoperíodo de 16 horas a 25±2°C, permanecendo nessas condições até o término do experimento.

O meio de cultivo utilizado foi WPM – Wood Plant Medium (LLOYD & MCCOWN, 1980), suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 1g L⁻¹ de carvão ativado, 6g L⁻¹ de ágar e diferentes combinações de Biobras 16[®], produto gentilmente fornecido pelo Instituto Nacional de Ciências Agrícolas (INCA), localizado em San Jose de la Lajas, La Habana, Cuba. O pH do meio foi ajustado para 5,8, sendo posteriormente autoclavado (120°C, a 1,2atm de pressão, por 20 minutos).

Os tratamentos consistiram da adição de Biobras 16[®] em diferentes concentrações (0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1mg L⁻¹) adicionados ao meio de cultivo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições de 20 tubos cada tratamento.

Após 90 dias de cultivo, as plantas que apresentaram crescimento de parte aérea e raiz passaram para a fase de pré-aclimatização. As plantas foram retiradas do tubo de ensaio, lavadas em água e transplantadas para sacos plásticos (5cmx10cm) contendo substrato na proporção 1:1 (solo + areia), acondicionadas em bandejas transparentes sendo cobertas com outra idêntica selada com fita, para evitar a desidratação excessiva das plantas. A irrigação foi realizada uma vez por semana, adicionando-se 10ml de água em cada planta. Estas permaneceram em sala de crescimento, nestas condições, durante seis semanas, quando então foram transferidas para casa de vegetação.

Na fase de aclimatização em casa de vegetação, a abertura das bandejas foi sendo realizada gradativamente, sendo retirada após duas semanas. Passadas mais duas semanas, as plantas foram transferidas para sacos plásticos (18cmx30cm), contendo solo + areia+ húmus na proporção de (2:1:1), sendo a irrigação realizada uma vez por semana.

As observações foram feitas semanalmente e as variáveis analisadas durante o período experimental foram: porcentagem de germinação, sendo

considerados germinados os embriões que emitiram parte aérea e ou raiz e porcentagem de plântulas normais, ou seja, aquelas que apresentaram expansão foliar e, esporadicamente, desenvolvimento de raízes secundárias durante o período em que as plântulas estavam *in vitro*. Avaliou-se também o comprimento médio das folhas e raízes, altura, número de folhas e de raízes na fase de pré-aclimatização em caixas plásticas (90 dias após a inoculação) e aclimatização em casa de vegetação (150 dias após a inoculação). A análise estatística foi feita por meio do programa ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA, 2011). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey quando significativas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos primeiros sete dias após a inoculação, observou-se o intumescimento dos embriões, indicando o início do processo germinativo. Aos 21 dias após o início do cultivo, aproximadamente 70% dos embriões, em todos os tratamentos, estavam germinados, sendo que, aos 35 dias, final do processo germinativo de embriões zigóticos de bocaiuva obteve-se uma taxa de germinação de 80%. Foram observados altos índices de germinação dos embriões zigóticos (70-87%), conforme a tabela 1.

Entretanto, no que se refere à melhora na eficácia da germinação, para a espécie estudada, não foi possível detectar efeito significativo da aplicação de diferentes concentrações de Biobras 16[®]. Esses resultados podem ser um indicativo de resposta padrão para a família *Arecaceae*, dado que outras pesquisas

Tabela 1 - Porcentagem de germinação (G%) e de formação de plântulas normais de bocaiuva cultivadas em meio básico WPM, quando tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16[®].

Concentração (mg L ⁻¹)	G (%) ^{ns}	Plântulas normais (%) [*]
0,0	75,60	31,20b
0,001	87,5	26,00c
0,005	70,00	18,00c
0,01	81,87	25,8c
0,05	83,10	37,5b
0,1	70,60	36,6b
0,5	80,00	53,10a
1,0	81,25	36,9b
CV(%)	13,70	17,20

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

também relatam a ineficiência do uso de reguladores vegetais sobre o processo germinativo (COSTA & ALOUFA, 2007; BANDEIRA, 2008). Esta resposta na qual a não aplicação do brassinosteróide apresenta resultado mais satisfatório poderia ser devido à utilização de embriões zigóticos em estágio maduro ou próximo a este, que, neste caso, podem germinar e crescer num meio orgânico, sendo dispensável a aplicação de reguladores de vegetais (HU & FERREIRA, 1998). Nesse sentido, é interessante destacar que o estágio fisiológico dos frutos (imáturos ou maduros) pode influenciar na germinação de palmeiras, como relatado em trabalho com *Astrocaryum* spp. (PEREIRA et al., 2006). Além disso, embriões de muitas espécies utilizam as reservas do próprio embrião para promover a germinação *in vitro* (GARCÍA et al., 2002).

Para a variável porcentagem de plântulas normais, observou-se influência das distintas concentrações do análogo de brassinosteróide, sendo que os valores de todos os tratamentos oscilaram entre 18 e 53%. O tratamento em que se aplicou 0,5mg L⁻¹ de Biobras 16[®] apresentou o melhor resultado (Tabela 1).

No que concerne à fase de pré-aclimatização, observaram-se diferenças significativas para algumas das variáveis analisadas de forma isolada. Dentre estas, em relação ao comprimento médio das folhas, pode-se inferir que a adição de brassinosteróide nas concentrações de 0,001 e 0,005mg L⁻¹ inibiu o crescimento das folhas, pois os valores nessas concentrações são estatisticamente inferiores ao controle (Tabela 2). O tratamento sem adição do brassinosteróide (controle) obteve resultado estatisticamente igual ao obtido nas concentrações 1,0 e 0,05mg L⁻¹. Ressalta-se, neste caso, o fato de os embriões zigóticos serem provenientes de uma

população natural de bocaiuva que normalmente apresentam alta diversidade genética entre os indivíduos.

As variáveis número de folhas e raízes e altura das plântulas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados (Tabela 2). No que se refere ao comprimento radicial, verificou-se que, nas concentrações 0,001 e 0,005mg L⁻¹, foram obtidos os valores mais baixos, podendo inferir que o Biobras 16[®] não estimulou o crescimento radicular das plântulas de bocaiuva. Os brassinosteróides, de maneira geral, podem estimular e ou inibir o crescimento radicular, fato reportado por MÜSSIG et al., 2003; BAO et al., 2004; MAZORRA & NÚÑEZ, 2008. De modo geral, a concentração de 1,0mg L⁻¹ de Biobras 16[®] apresentou efeito positivo sobre maior número de variáveis associadas a fase de pré-aclimatização.

Na fase de aclimatização em casa de vegetação, detectou-se diferença significativa apenas para o comprimento médio das folhas, sendo que a concentração de 0,1mg L⁻¹ foi superior aos demais tratamentos avaliados, porém não diferiu do controle (Tabela 3).

Vários mecanismos de ação têm sido sugeridos para explicar a promoção do crescimento de plantas mediado por análogos de brassinosteróides. No entanto, mesmo diante de todas essas possibilidades, o estudo dessas substâncias, especialmente em palmeiras, ainda são escassos, ou seja, há um longo caminho a percorrer antes de entender o real impacto destes compostos sobre a dinâmica de crescimento e desenvolvimento dessas espécies. Entretanto, os resultados obtidos reforçam a possibilidade do emprego de brassinosteróides no início do processo germinativo, tendo em vista que a influência positiva da aplicação do análogo de

Tabela 2 - Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura (H), número de raízes (NR) e comprimento de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bocaiuva (aos 90 dias após a inoculação) na fase de pré-aclimatização em caixas plásticas, quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16[®].

Concentração (mg L ⁻¹)	CF (cm)*	NF ^{ns}	H (cm)*	NR ^{ns}	CR (cm)*
0,0	3,95a	1,56	5,52ab	1,08	5,67bc
0,001	2,43b	1,32	2,90c	1,0	4,49c
0,005	2,35b	1,62	3,56bc	1,03	3,98c
0,01	3,27ab	1,42	4,40abc	1,13	6,59abc
0,05	4,07 a	1,90	6,38 a	1,00	7,22abc
0,1	3,70ab	1,72	5,83 a	1,09	6,38abc
0,5	3,55ab	1,87	5,66 a	1,00	9,87ab
1,0	4,55 a	1,47	5,82 a	1,05	10,61a
CV(%)	17,6	16,2	17,5	7,93	30,1

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Tabela 3 - Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura (H), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bocaiuva (150 dias após a inoculação) na fase de aclimatização em casa de vegetação, quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16®.

Concentração (mg L ⁻¹)	CF (cm)*	NF ^{ns}	H (cm) ^{ns}	NR ^{ns}	CR (cm) ^{ns}
0,0	7,40ab	2,47	10,93	2,22	7,52
0,001	6,08b	1,95	8,43	2,45	4,95
0,005	5,26b	2,10	8,80	1,80	4,94
0,01	6,83ab	2,13	9,34	2,03	5,52
0,05	7,16ab	2,52	11,87	2,08	7,27
0,1	8,60 a	2,15	11,48	2,24	5,55
0,5	5,53b	2,62	10,75	2,62	5,28
1,0	7,00ab	2,52	12,20	2,41	7,21
CV(%)	15,84	17,6	18,6	31,3	30,75

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

brassinosteróide não foi observada nas fases posteriores. Nessa perspectiva, sugere-se testar outras concentrações do análogo brassinosteróide e realizar outras aplicações ao longo do cultivo para verificar a influência desse regulador no crescimento das plantas de bocaiuva, uma palmeira com expressiva importância ecológica, econômica e social.

CONCLUSÃO

A aplicação de análogo de brassinosteróide em meio de cultivo WPM não promoveu aumento na porcentagem de germinação dos embriões zigóticos de bocaiuva. O Biobras 16® estimulou a formação de plântulas normais, embora esse efeito não tenha sido observado nas demais fases de crescimento.

REFERÊNCIAS

- BANDEIRA, F.S. **Cultivo *in vitro* e embriogênese somática de embriões zigóticos de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges**. 2008. 92f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Curso de Pós-graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, MG.
- BAO, F. et al. Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Washington, v.134, p.1624-1631, 2004.
- CLOUSE, S.D.; SASSE, J. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.49, p.427-451, 1998.
- COLL, M.T. et al. **Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators**: PCT Int. Appl. Co 7571/100, AOIN 45/00WO 97/13780, 1995. 780p.
- COSTA, N.M.de S; ALOUFA, M.A.I. Desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de tamareira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza-Ceará, v.38, n.3, p.276-279, 2007.
- CORTES, P.A. et al. Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.97, v. 1, p.65-73, 2003. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/scihorti>. Acesso em: 14 abr. 2011. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00080-8.
- GARCÍA, J.L. et al. 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.
- GROVE, M.D. et al. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. **Nature**, London, v.281, p.216-217, 1979.
- HIANE, P.A. et al. Bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., pulp and kernel oils: characterization and fatty acid composition. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.8, n.3, p.256-259, 2005.
- HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de embriões. In: TORRES, A.C. et al. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA - CNPH, 1998. V.1, p.371-393.
- KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v.22, n.4, p.289-297, 2003.
- LEDO, A. da S. et al. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de coqueiro-anão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.2, p.147-154, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100204X2007000200002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 abr. 2009. doi: 10.1590/S0100-204X2007000200002.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Seattle, v.30, p.421- 427,1980.
- MANDAVA, N.B. Plant growth-promoting brassinosteroids. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.39, p.23-52, 1988.

- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.
- MAZORRA, L.M.; NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de la biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brasinoesteroides en las plantas. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.29, n.1, p.91-105, 2008.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- MÜSSIG, C. et al. Brassinosteroids promote root growth in Arabidopsis. *Plant Physiology*, Washington, v.133, n.3, p.1261-1271, 2003.
- NUCCI, S.M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba**. 2007. 84f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Curso de Pós-graduação em Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agronômico de Campinas – IAC, Campinas, SP.
- NÚÑEZ, M. et al. Influencia de la 24-epibrasinólida y un análogo espiroestanoico de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.27, n.1, p.75-82, 2006.
- PEREIRA, J.E.S. et al. Germinação de embriões zigóticos de murmurú (*Astrocaryum ulei*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.251-256, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542006000200009&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 20 ago. 2009. doi: 10.1590/S1413-70542006000200009.
- RIBEIRO, L.M. et al. Estruturas da semente e germinação *in vitro* de embriões de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart. In: FÓRUM DE ENSINO, 10.; SEMINÁRIO DE PESQUISA, 11.; SEMANA DA EXTENSÃO, 5.; SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 9.; SEMANA DE GESTÃO, 2.; ENCONTRO DA UAB, 2., 2010 Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro, Montes Claros, MG. **Anais...** Montes Claros, MG, 2010. 3p.
- RAO, S.S. et al. Brassinosteroids – A new class of phytohormones. **Current Science**, Bangalore, Índia, v.82, n.10, p.1239-1245, 2002.
- SILVA, F. de A.S. e. **ASSISTAT** versão 7.6 beta. Grande-PB: Assistência Estatística, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN - Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Campina. Disponível em: <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 20 fev.2011.
- SITTOLIN, I.M.; CUNHA, L.H.S. 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, 2., 1987, Brasília. **Resumos...** Brasília: ABCTP, 1987. p.13.
- SOARES J.D.R. et al. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.5, p.773-778, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010384782011005000040&script=sci_arttext>. Acesso em: 28 abr. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782011005000040.
- STEINMACHER, D.A et al. Somatic embryogenesis from immature peach palm inflorescence explants: towards development of an efficient protocol. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Hange, v.89, n.1, p.15-22, 2007. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/g8u506t361864t72>>. Acesso em: 20 set. 2010. doi: 10.1007/s11240-007-9207-6.
- TABAI, S. et al. Control of somatic embryos formation the palm macaúba (*Acrocomia aculeata*). In: INTERNATIONAL CONGRESS PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 7., 1990, Amsterdam. **Resumos...** Amsterdam: IAPTC, 1990. p.248.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 820p.
- TEIXEIRA, L.C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe Agropecuário**, v.26, p.18-27, 2005.