



Biotecnologia

Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de Tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey. Arecaceae)

Flávio Freires Ferreira¹, Simone da Silva^{1*}, Efigênia Lopes da Silva¹, Arlena Maria Guimarães Gato¹, José Odair Pereira²

Resumo

Astrocaryum aculeatum G. Mey. (Arecaceae), popularmente conhecido como tucumã, é uma palmeira que ocorre na Amazônia e apresenta potencial para o mercado de alimento e artesanato. Tem grande importância econômica, principalmente, pelos diferentes produtos que dela podem ser extraídos e usados. A espécie tem como característica a demora na germinação, fato que desestimula o seu cultivo. Deste modo, informações que viabilizem métodos e técnicas que acelerem a produção de mudas são importantes para o cultivo da espécie. O presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo de germinação *in vitro* de embriões zigóticos de tucumã através da técnica de cultura de tecidos, avaliando o efeito do uso de antioxidantes na fase de inoculação. Os ensaios foram realizados no Centro de Biotecnologia da Amazônia. Os embriões extraídos foram inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL dos meios de cultura MS e Y³, ambos suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 600 mg.L⁻¹ de antibiótico (Cefotaxima sódica) com três antioxidantes, de acordo com as seguintes concentrações: Carvão ativado (CA): (500, 1000, 2000 mg.L⁻¹); Ácido ascórbico (AA): (50, 100, 150 mg.L⁻¹) e Polivinilpirrolidona (PVP): (200, 400, 600 mg.L⁻¹). Os resultados demonstraram que não há a necessidade de utilização de antioxidantes na fase de inoculação dos embriões, pois o meio MS0 (controle) apresentou 86% de germinação e ausência de oxidação. A germinação *in vitro* de embriões zigóticos de *Astrocaryum aculeatum* mostrou-se uma técnica eficiente, acelerando em 90 dias a germinação com uma taxa de 93,33%.

Palavras-Chave: palmeiras, tucumã, cultura de embriões, cultura de tecidos

In vitro germination of zygotic embryos of Amazonian Tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey. Arecaceae). *Astrocaryum aculeatum* G. Mey. (Arecaceae), popularly known as tucumã, is a palm tree that occurs in the Amazon and presents a potential market of food and crafts. Has great economic importance, mainly the different products that it can be extracted and used. The species is characterized by delay in germination, a fact that discourages their cultivation. Thus, information that enables methods and techniques that accelerate the seedlings production is important to the cultivation of this species. This study aimed to establish a protocol for *in vitro* germination of tucumã zygotic embryos through the tissue culture technique, evaluating the use of antioxidants during inoculation. The tests were performed at the Amazon Biotechnology Center. The extracted embryos were inoculated individually in test tubes containing 10 mL

¹ Pesquisadora CBA, Laboratório de Cultura de Tecidos Manaus, AM, Brasil. *correspondência: simonydasilva@gmail.com

² Universidade Federal do Amazonas, Centro de Apoio Multidisciplinar, Laboratório de Tecnologias de DNA. 69077- 000. Manaus – AM



of MS and Y³ media, which may have different compositions, both supplemented with 30 g.L⁻¹ sucrose and 600 mg.L⁻¹ antibiotics (Cefotaxime sodium) with three antioxidants in accordance with the following concentrations: activated charcoal (AC): (500, 1000, 2000 mg.L⁻¹), ascorbic acid (AA) (50, 100, 150 mg.L⁻¹), polyvinylpyrrolidone (PVP) (200, 400, 600 mg.L⁻¹). The results showed that there is no need to use antioxidants during the embryos inoculation, as the MS0 medium (control) showed 86% germination and absence of oxidation. The *in vitro* germination of zygotic embryos *Astrocaryum aculeatum* proved to be an efficient technique, speeding at 90 days with a rate of 93.33%.

Keywords: palm trees, tucumã, embryos culture, *in vitro* germination, tissue culture

1. Introdução

A biodiversidade é responsável pelo equilíbrio dos ecossistemas e serve como fonte de uso econômico, sendo responsável pelas atividades agrícolas, pecuárias, pesqueiras e florestais, assim como serve de base para os diversos segmentos industriais, inclusive para a indústria de alimentos, considerada de grande importância para o desenvolvimento de qualquer nação e bem-estar de sua população, através da possibilidade de uso de uma dieta ampla (Oliveira, 2007).

A flora brasileira é formada por 49.993 diferentes espécies de plantas (Flora do Brasil, 2020), e a Amazônia, em especial, apresenta espécies com características muito peculiares, de grande potencial para os mais diversos usos. Algumas de suas espécies têm potencial para a exploração sustentável, o que contribui de forma significativa para a melhoria das condições socioeconômicas na Região. A utilização das plantas desta região não se restringe à indústria madeireira, mas de inúmeros produtos, que vão desde frutos, flores, óleos e gorduras, para uso na alimentação humana e animal; substâncias tóxicas e inseticidas, com potencial para serem usados tanto na agricultura como na pecuária; látex, folhas e raízes que tanto podem ser usadas na alimentação como na medicina, bem como, em paisagismo e na ornamentação, na comercialização e industrialização de inúmeros produtos

(Guarim Neto, 1994; Cortez *et al.*, 2003) e, mais recentemente, na indústria da biotecnologia e das biojóias.

As palmeiras pertencem ao grupo de plantas mais utilizadas por comunidades indígenas e urbanas, movimentando uma boa parcela da economia nas pequenas e grandes cidades, estimando-se que pelo menos 40% das palmeiras amazônicas são efetivamente utilizadas pelos habitantes da região (Almeida, 2003).

A espécie *Astrocaryum aculeatum* G. Mey., conhecida popularmente como tucumã-do-Amazonas, apresenta ampla distribuição, ocorrendo em quase todos os Países das Américas do Sul e Central (Bolívia, Guiana, Suriname, Trinidad, Venezuela e Brasil). No Brasil, é abundantemente distribuída na Amazônia Ocidental e Central, especialmente nos estados do Acre, Pará, Rondônia, Mato Grosso, Roraima e Amazonas (Lopes *et al.*, 2012), sendo este último seu maior centro de diversidade genética (Lleras *et al.*, 1983).

Por se tratar de uma palmeira de ocorrência espontânea em áreas de regeneração natural, o tucumã-do-Amazonas é considerado como não domesticado, sendo explorado por meio do extrativismo (Lima *et al.*, 2013). No entanto, para Clement (2001), o tucumã provavelmente foi semidomesticado pelos ameríndios. Isso explica sua ocorrência em áreas antropizadas como fazendas, sítios e quintais (Gentil & Ferreira, 2005) como também, a



manutenção e propagação pelos agricultores de plantas selecionadas fenotipicamente (Lopes et al., 2012).

Os frutos do tucumã apresentam drupas ovoides lisas (5-6 cm de diâmetro e 70-75 g de peso) com epicarpo, mesocarpo, endocarpo que variam de amarelo a laranja escuro e vermelho (Maia et al., 2014; Matos et al., 2019).

Os frutos do tucumã são utilizados para a alimentação humana e de animais domésticos, dos quais o mesocarpo é considerado uma fonte alimentícia altamente calórica, devido ao elevado teor de lipídios, teores satisfatórios de fibra e vitamina E.

O óleo extraído do mesocarpo possui características organolépticas e nutritivas de alto valor para a indústria de alimentos e cosmética (Yuyama et al., 2005).

Sua composição química apresenta uma série de compostos bioativos, como vitamina A, ômega 3, 6 e 9, carotenoides (all-trans- β -caroteno, 13-cis β -caroteno, all-trans-a-caroteno, trans- β -criptoxantina), catequinas e quercetina (Bony et al., 2012; Souza-Filho et al., 2013), que poderiam apresentar efeito potencial benéfico para a saúde humana. Além disso, estudos prévios demonstraram a capacidade antitumoral, anti-hiperglicêmica, antiinflamatória e antimicrobiana desse fruto (Ongaratto et al., 2020).

Embora o tucumã seja, aparentemente, pouco exigente quanto à fertilidade do solo e não apresente grandes problemas fitossanitários, o seu plantio na própria região amazônica é inexpressivo. Dentre os fatores que contribuem para essa situação estão, provavelmente, a dificuldade na germinação das sementes, que levam até dois anos para germinar, e a impossibilidade da propagação vegetativa, por ser uma planta monopodial, ou seja, apresenta apenas um estipe diferente do *Astrocaryum*

vulgare Mart. (tucumã-do-pará), que forma touceira (Sá, 1984).

Apesar de constituir uma importante atividade econômica para a região, a obtenção dos frutos é feita geralmente de forma extrativista, havendo poucos plantios de *A. aculeatum*. A principal forma de propagação dessa espécie, como de outras palmeiras, é por sementes. Contudo, existem poucas pesquisas sobre o processo de produção de mudas, desde a germinação das sementes. Miranda et al. (2001) citam que as sementes da espécie apresentam dormência, constituindo-se num problema para produção de mudas. A dormência é um fator interno da semente, de grande importância no estudo da germinação, e muitas espécies da família Arecaceae as exibem em diferentes graus (Odetola, 1987).

A propagação do tucumã ocorre exclusivamente pela via seminífera, que em condições naturais pode levar de um a dois anos para germinar (Lorenzi et al., 2004). A propagação via seminífera constitui-se no processo natural de disseminação e perpetuação das espécies. Em se tratando de uma forma de propagação sexual, as plantas frutíferas provenientes de sementes apresentam variações devido à segregação genética (Hartmann et al., 2002). Portanto, para solucionar os problemas decorrentes das dificuldades de germinação e da desuniformidade das plântulas formadas, a propagação *in vitro*, pela cultura de embriões, torna-se uma ferramenta de grande valia na produção de mudas de muitas palmeiras.

A micropropagação ou propagação *in vitro* tem por objetivo a produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária e tem contribuído para prevenir a extinção de muitas espécies vegetais. Como as

plantas trabalhadas são geneticamente padronizadas, a interferência da variabilidade genética nos resultados pode ser eliminada e, conseqüentemente, os resultados obtidos são efeitos das variáveis introduzidas no processo pelo experimentador (Silva and Astolfi Filho, 2018).

A técnica de cultura de embriões tem-se expandido e dado importantes contribuições em estudos básicos da fisiologia do desenvolvimento do embrião, em programas de melhoramento genético, pela recuperação de híbridos de interesse de cruzamentos incompatíveis, bem como para a quebra de dormência de sementes, observada em algumas espécies (Ferreira et al., 1990).

2. Material e Método

2.1. Coleta de material

Os frutos maduros de *A. aculeatum* foram coletados de plantas matrizes, em áreas de produtores rurais, localizados nos Municípios de Barreirinha, Nova Olinda do Norte e Rio Preto da Eva, no Estado do Amazonas, seguindo critérios de produção e aspecto fitossanitários, e encaminhados ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia para a análise biométrica dos frutos (Figura 1).

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Coordenação de Produtos Naturais (CPN) do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA).

Após a retirada do mesocarpo, os pirênios foram lavados em água corrente com o auxílio de uma esponja com detergente neutro e colocados sobre uma bancada para secar durante 20 dias, sob temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, tempo esse necessário para soltar o endosperma do endocarpo. Em seguida, foi realizada a quebra do endocarpo, com o uso de uma morsa (Figura 2A),

para retirada do endosperma (Figuras 2B e C). Esse material foi lavado com água destilada esterilizada e mantidos em hidratação por 12 horas (Figura 2D). Em seguida, com o auxílio de um formão, foi retirada uma porção do endosperma contendo o embrião.

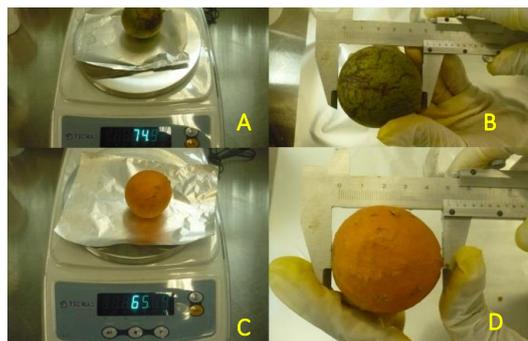


Figura 1 - Análise biométrica de frutos de *Astrocarum aculeatum*: (A e C) Pesagem em balança de precisão e (B e D) Medição com o auxílio de um paquímetro.

2.2. Assepsia e resgate dos embriões

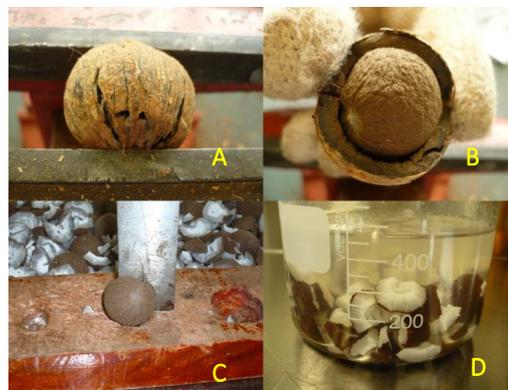


Figura 2 - Procedimentos de pré-assepsia dos explantes: (A, B e C) Quebra do endocarpo e (D) Endosperma em fase de hidratação

Após a etapa de hidratação, as porções de endosperma contendo os embriões foram levadas à câmara de fluxo laminar e mergulhadas em solução de álcool 70% por três minutos, lavados em água destilada e autoclavada, posteriormente imersos em solução de hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo e água destilada autoclavada, na

proporção de 1:1, por 15 minutos. Após a assepsia, as porções de endosperma contendo o embrião foram lavadas com água destilada estéril, por três vezes (Figura 3).



Figura 3 - Assepsia dos explantes em câmara de fluxo laminar: (A) Lavagem em álcool 70%; (B) Imersão em solução de hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo; (C e D) enxágue em água destilada autoclavada.

2.3. Introdução *in vitro* dos explantes

O processo de introdução *in vitro* dos explantes foi realizado em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas. Os embriões zigóticos foram extraídos e introduzidos em tubos de ensaio de 50 mL, contendo 10 mL de meio de cultura (Figura 4).

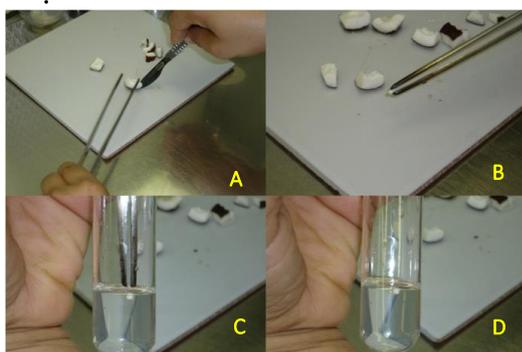


Figura 4 - Processo de introdução *in vitro* dos embriões de *Astrocaryum aculeatum*: (A) Extração do embrião; (B e C) Introdução *in vitro* do embrião e (D) Embrião *in vitro*.

Os embriões zigóticos extraídos foram introduzidos, individualmente, em tubos de ensaio de 50 mL, contendo 10 mL de meio MS (Murashige e Skoog, 1962) e meio Y³ (Eeuwens, 1978) (Tabela 1),

ambos suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 600 mg.L⁻¹ de antibiótico (Cefotaxima sódica), com três diferentes agentes antioxidantes, de acordo com as seguintes concentrações: Carvão ativado (CA): (500, 1000, 2000 mg.L⁻¹); Ácido ascórbico (AA): (50, 100, 150 mg.L⁻¹); Polivinilpirrolidona (PVP): (200, 400, 600 mg.L⁻¹), além do controle em ambos os meios de cultura.

2.4. Efeito de agentes antioxidantes na germinação *in vitro*.

O pH do meio de cultura foi ajustado em $5,8 \pm 0,1$ e solidificado com 1,8 g.L⁻¹ de phytigel antes da autoclavagem a 121 °C, por 20 minutos. O experimento foi fatorial 2 x 3 x 4, em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições e 10 embriões por repetição. Os dados coletados foram a porcentagem de germinação e oxidação. Após a introdução *in vitro*, os embriões permaneceram em câmara de Demanda Biológica de Oxigênio (B.O.D.), no escuro, em temperatura de 25 ± 1 °C, por 30 dias. A avaliação dos embriões quanto à taxa de germinação, oxidação e contaminação foi realizada aos 30 dias. Após este período, os embriões foram transferidos para novos meios de cultura, com as mesmas composições e mantidos em sala de crescimento a 25 ± 1 °C, intensidade luminosa de 30,0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas, por 120 dias, para o completo desenvolvimento.

2.5. Análise Estatística

O efeito de diferentes antioxidantes, quanto ao percentual de oxidação, contaminação e germinação das plântulas, foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, ao nível de significância 5%. Estas análises foram efetuadas utilizando-se o Graph Pad in Stat, versão 3,01.

Tabela 1 - Composição dos Sais de MS (Murashige, T. & Skoog, F., 1962) e sais de Y³ (Eeuwens, 1978).

Sais de MS (Murashige & Skoog, 1962)		Sais de Y ³ (Eeuwens, 1978)		
Solução estoque	Sal	Solução estoque	Sal	
A	NH ₄ NO ₃ Nitrato de Amônia	I	NH ₄ NO ₃ Nitrato de Amônia	
B	KNO ₃ Nitrato de Potássio	II	KNO ₃ Nitrato de Potássio	
C	MgSO ₄ .7H ₂ O Sulfato de Magnésio	III	CaCl ₂ .2H ₂ O Cloreto de Cálcio	
	MnSO ₄ .4H ₂ O Sulfato de Manganês	IV	MgSO ₄ .7H ₂ O Sulfato de Magnésio	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O Sulfato de Zinco		KH ₂ PO ₄ Fosfato de Potássio	
	CuSO ₄ .5H ₂ O Sulfato de Cobre	V	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ .2H ₂ O Ac. Etilenodiaminotetraacético	
	CoCl ₂ .6H ₂ O Cloreto de Cobalto		FeSO ₄ .7H ₂ O Sulfato Ferroso	
D	CaCl ₂ .2H ₂ O Cloreto de Cálcio	VI	H ₃ BO ₃ Ácido Bórico	
E	H ₃ BO ₃ Ácido Bórico		MnSO ₄ .4H ₂ O Sulfato de Manganês	
	KH ₂ PO ₄ Fosfato de Potássio		ZnSO ₄ .7H ₂ O Sulfato de Zinco	
	KI Iodeto de Potássio		Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O Molibdato de Sódio	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O Molibdato de Sódio		CoCl ₂ .6H ₂ O Cloreto de Cobalto	
F	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ .2H ₂ O Ac. Etilenodiaminotetraacético		CuSO ₄ .5H ₂ O Sulfato de Cobre	
	FeSO ₄ .7H ₂ O Sulfato Ferroso		C ₆ H ₁₁ O ₆ Mio - Inositol	
G	C ₂₁ H ₁₈ C ₁₂ N ₄ OS.H ₂ O Tiamina		C ₂₁ H ₁₈ C ₁₂ N ₄ OS.H ₂ O Tiamina	
H	C ₆ H ₁₁ O ₆ Mio - Inositol		VII	C ₆ H ₁₁ NO ₃ Piridoxina
I	C ₆ H ₁₁ NO ₃ Piridoxina			C ₆ H ₅ NO ₂ Ác. Nicotínico
J	C ₆ H ₅ NO ₂ Ác. Nicotínico	Ác. Pantotênico		
K	Glicina	Biotina Glicina		

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos e três repetições, sendo utilizados 30 explantes para cada tratamento, que foram realizados em triplicata. As avaliações foram realizadas após 60 dias de cultivo.

Os dados obtidos quanto ao efeito dos diferentes meios de cultura (MS e WPM) sobre a altura das plântulas, o número de brotos e de segmentos nodais

por broto e a taxa de multiplicação foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, ao nível de significância 5%. Estas análises foram efetuadas utilizando-se o *Graph Pad in Stat*, versão 3,01. Para a análise das porcentagens de germinação e enraizamento, conforme o meio utilizado, foi usado o teste de diferença entre porcentagens (p₁ e p₂)



ao nível de 5% de significância utilizando-se o Software Statistica for Windows™, versão 5.0.

3. Resultados e Discussão

De acordo com a tabela 2, os índices de contaminação dos embriões de *A. aculeatum*, após 60 dias de inoculação foi, em média, de 9,33 e 8,67%, nos meios MS e Y3, respectivamente.

Tabela 2 - Índices de contaminação de embriões maduros de *Astrocaryum aculeatum*, após 60 dias de inoculação, em meio MS e Y³ com diferentes concentrações de agentes antioxidantes.

Tratamentos (mg.L ⁻¹)	Contaminação (%)	
	MS	Y3
Controle	13,33 ^b	13,33 ^b
AA (50)	6,67 ^c	6,67 ^c
AA (100)	6,67 ^c	13,33 ^b
AA (150)	0,00 ^d	26,67
CV (500)	13,33 ^v	6,67 ^c
CV (1000)	6,67 ^c	0,00 ^d
CV (2000)	13,33 ^b	0,00 ^d
PVP (200)	20,00 ^a	0,00 ^d
PVP (400)	6,67 ^c	20,00 ^a
PVP (600)	6,67 ^c	0,00 ^d
Média	9,33 ^a	8,67 ^b

Valores na mesma coluna seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (nível de significância de 5%).

A contaminação, frequentemente, ocorre como consequência do crescimento de microrganismos que não foram completamente eliminados, durante o processo de desinfestação do material vegetal ou por falhas na assepsia dos instrumentais, meios de cultura, do operador, entre outros fatores (Esposito-Polesi et al., 2020; Panicker et al., 2007; Thomas & Aswath, 2013). Já o surgimento de microrganismos em virtude de outros mecanismos que não se relacionam a erros durante o processo de cultivo *in vitro* tem sido qualificado como manifestação endofítica (Almeida

et al., 2009; Abreu-Tarazi et al., 2010; Esposito-Polesi et al., 2015, 2017, 2020).

Pode-se observar que houve diferença significativa nas taxas de germinação (Tabela 3) e oxidação (Tabela 4) em todos os agentes antioxidantes testados nos meios de cultura, ao passo que a germinação dos embriões de tucumã *in vitro*, em meio MS, apresentou índice médio de 84,00%, resultado superior ao obtido utilizando o meio Y³, que apresentou 58,67% de germinação.

O meio suplementado com 100 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico e o MS0 (controle), foram os que levaram às maiores taxas de germinação, com índices de 93,33% e 86,67 de germinação, respectivamente. Ambos os resultados foram significativamente superiores à taxa de 73,33%, alcançada com 200 mg.L⁻¹ de PVP, que levou ao índice mais abaixo (Tabela 3).

Dos meios de cultura Y³ testados, o que apresentou o melhor resultado foi o meio suplementado com 500 mg.L⁻¹ carvão ativado, com índice de 93,33% de germinação, significativamente superior aos 26,67% alcançados com a utilização do meio Y³ acrescido de 600 mg.L⁻¹ de PVP (Tabela 3).

Tais resultados mostram que é desnecessário o uso de antioxidantes para o meio MS, pois o índice de oxidação das plântulas desenvolvidas no meio MS0 foi nulo (Tabela 4). Já para o meio Y³ recomenda-se o uso de carvão ativado na dosagem de 500 mg.L⁻¹ pois, nesta concentração, além de não ter apresentando nenhum indício de oxidação, observou-se uma taxa de germinação de 93,33%, bem superior ao obtido com o meio Y³ controle, onde observou-se a oxidação de 20,00% dos embriões e germinação de 66,67%. Com esses dados fica evidenciada a importância dos antioxidantes no controle da oxidação no embrião de tucumã no meio Y³, pois o mesmo



apresentou alto índice de oxidação. Juntamente com o ácido ascórbico na dosagem de 50 mg.L⁻¹ (60,00% de oxidação) e o PVP na dosagem de 600 mg.L⁻¹ (73,33%). O antibiótico utilizado promoveu a síntese de compostos fenólicos e os níveis mais elevados foram detectados no tratamento com meio Y³, apresentando maior percentual de oxidação (Tabela 4).

Tabela 3 - Índices de germinação de embriões maduros de *Astrocaryum aculeatum*, após 60 dias de inoculação, em meio MS e Y³ com diferentes concentrações de agentes antioxidantes.

Tratamentos (mg.L ⁻¹)	Germinação (%)	
	MS	Y ³
Controle	86,67 ^b	66,67 ^c
AA (50)	80,00 ^c	33,33 ^g
AA (100)	93,33 ^a	40,00 ^f
AA (150)	86,67 ^b	66,67 ^c
CV (500)	86,67 ^b	93,33 ^a
CV (1000)	80,00 ^c	60,00 ^d
CV (2000)	86,67 ^b	80,00 ^b
PVP (200)	73,33 ^d	66,67 ^c
PVP (400)	80,00 ^c	53,33 ^e
PVP (600)	86,67 ^b	26,67 ^h
Média	84,00 ^a	58,67 ^b

Valores na mesma coluna seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (nível de significância de 5%).

Os antioxidantes químicos notadamente utilizados em diversos protocolos são: carvão ativado, ácido ascórbico e PVP (George, 1996). Para as palmáceas, o mais utilizado, no início dos trabalhos com a cultura de tecidos, é o carvão ativado em diferentes concentrações de até 2% (De Guzman e Manuel, 1975; Tisserat, 1979; Paranjothy e Othaman, 1982; Ashburner *et al.*, 1995).

Estes resultados foram superiores aos obtidos por Nazário e Ferreira (2010) em sistema de embebição de sementes, com emergência de 32%, em média, para sementes embebidas, em relação às sementes da testemunha (21%). Também são superiores aos 73,00% de

emergência verificados por Ferreira *et al.*, (2010) com sementes de tucumã embebidas e semeadas em serragem com sombreamento de 50%. Em outro trabalho Ferreira e Gentil (2006), tanto para as sementes embebidas quanto para as não embebidas, os valores de germinação foram 70% e 58%, respectivamente.

Tabela 4 - Índices de oxidação de embriões maduros de *Astrocaryum aculeatum*, após 60 dias de inoculação, em meio MS e Y³ com diferentes concentrações de agentes antioxidantes.

Tratamentos (mg.L ⁻¹)	Oxidação (%)	
	MS	Y ³
Controle	0,00 ^c	20,00 ^g
AA (50)	13,33 ^a	60,00 ^b
AA (100)	0,00 ^c	46,67 ^c
AA (150)	13,33 ^a	6,67 ^h
CV (500)	0,00 ^c	0,00 ⁱ
CV (1000)	13,33 ^a	40,00 ^d
CV (2000)	0,00 ^c	20,00 ^g
PVP (200)	6,67 ^b	33,33 ^e
PVP (400)	13,33 ^a	26,67 ^f
PVP (600)	6,67 ^b	73,33 ^a
Média	6,67 ^b	32,67 ^a

Valores na mesma coluna seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (nível de significância de 5%).

Os resultados deste experimento são semelhantes aos resultados obtidos por Ramos (2008), o qual obteve germinação entre 60 e 85%. Vale salientar que no presente trabalho o critério de controle de umidade da semente foi extremamente rigoroso, assim como no experimento realizado por Ramos (2008). Nesse processo, as sementes antes da excisão dos embriões, passaram por um período de secagem em sala com sistema de ar-condicionado, com temperatura ajustada em 25° C, por 20 dias. Provavelmente esse fator (tempo de secagem da semente) influenciou de forma positiva para a germinação média de 84% em meio MS.



4. Conclusão

Na fase de germinação *in vitro* de embriões zigóticos maduros de *Astrocaryum aculeatum*, quando utilizado o meio MS, não se faz necessário o uso de antioxidantes. Mas com a utilização do meio Y³, se faz necessário o uso de carvão ativado na concentração de 500 mg.L⁻¹. O meio de cultura comumente utilizado no cultivo *in vitro* palmeiras é o Y³, porém, os resultados deste trabalho mostraram-se relevantes com a utilização do meio MS, pois o mesmo é economicamente mais viável, reduzindo os custos de produção de mudas *in vitro* de *Astrocaryum aculeatum*. A germinação *in vitro* de embriões zigóticos de *Astrocaryum aculeatum* mostrou-se uma técnica eficiente, acelerando em 90 dias a germinação com uma taxa de até 93,33%.

Agradecimentos

À Superintendência da Zona Franca de Manaus (SUFRAMA) e ao Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), através do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), pela oportunidade, disponibilização de sua estrutura física, material e intelectual. Assim como pelo suporte financeiro.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

- ABREU-TARAZI, M.F.; NAVARRETE, A.A.; ANDREOTE FD, ALMEIDA CV, TSAI SM; ALMEIDA M. Endophytic bacteria in long-term *in vitro* cultivated "axenic" pineapple microplants revealed by PCR-DGGE. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p.555-560, 2010.
- ALMEIDA, S.S. Palmeiras da Amazônia oriental: importância paisagística, florística e econômica. **In: Congresso Nacional de Botânica**, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém. Anais... p. 218-218. 2003.
- ALMEIDA, C.V.; ANDREOTE, F.D.; YARA, R.; TANAKA, F.A.O.; AZEVEDO, J.L.; ALMEIDA, M. Bacteriosomes in axenic plants: endophytes as stable endosymbionts. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 25: 1757-1764. 2009.
- ASHBURNER, G.R.; FAURE, M.G.; TOMLINSON, D.R.; THOMPSON, W.K. **A guide to the zygotic embryo culture of coconut palms (*Cocos nucifera* L.)**. Canberra: Aciar, 16p. (ACIAR. Technical report series, 36). 1995.
- BONY, E.; BOUDARD, F.; BRAT, P.; DUSSOSSOY, E.; PORTET, K.; POUCHERET, P.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Awara (*Astrocaryum vulgare* M.) pulp oil: chemical characterization, and anti-inflammatory properties in a mice model of endotoxic shock and a rat model of pulmonary inflammation. **Fitoterapia**, v.83, n.1, p. 33-43, 2012.
- CLEMENT, C.R. Melhoramento de espécies nativas. In: NASS, L.L. et al. (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Ed. Fundação de Apoio à pesquisa Agropecuária de Mato Grosso, MT. 423-441. 2001.
- CORTEZ, M.G.; MENDONÇA, M.S.DE; OLIVEIRA, M.I.B.DE; ARAÚJO, M.G.P.DE; OLIVEIRA, A.B. 2003. Descrição estrutural de uma comunidade de palmeiras de terra firme na Amazônia Central. Disponível em: (www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resu_moshm). Acesso em: 20 de abril de 2020.
- DE GUZMAN, E. V.; MANUEL, G.C. **Improved root growth in embryo and seedlings cultures of coconut "makapuno" by the incorporation of charcoal in the growth medium**. Rome: FAO, 6p. 1975.
- EEUWENS, C.J. Effects of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera* L.) and date 29 (*Phoenix dactylifera*) palms cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 42, p. 73-78. 1978.



- ESPOSITO-POLESI, N.P.; ANDRADE, P.A.M.; ALMEIDA, C.V.; ANDREOTE, F.D.; ALMEIDA, M. Endophytic bacterial communities associated with two explant sources of *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.31, p. 1737-1746. 2015.
- ESPOSITO-POLESI, N.P.; ABREU-TARAZI, M.F.; ALMEIDA, C.V.; TSAI, S.M.; ALMEIDA, M. Investigation of endophytic bacterial community in supposedly axenic cultures of pineapple and orchids with evidence on abundant intracellular bacteria. **Current Microbiology**, v.74, p. 103-113. 2017.
- ESPOSITO-POLESI, N.P. Contaminação versus manifestação endofítica: implicações no cultivo *in vitro* de plantas. **Rodriguésia**, v.71, p. 1-15, 2020.
- FERREIRA, V.L.P.; BOVI, M.L.A.; CARVALHO, C.R.L. et al. Composição química e curvas de titulação de acidez do palmito pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) de diversas localidades. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p.96-104, 1990.
- FERREIRA, S.A.N.; CASTRO, A.F.; GENTIL, D. F.O. Emergência de plântulas de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em função do pré-tratamento das sementes e da condição de semeadura. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1189-1195. 2010.
- FERREIRA, S.A.N.; GENTIL, D.F.O. Extração, embebição e germinação de sementes de tucumã *Astrocaryum aculeatum*. *Acta Amazonica*, Manaus, v.36, n.2, p.141-146, 2006.
- Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 22 jun. 2021.
- GENTIL, D.F.O. & S.A.N. FERREIRA. Morfologia da plântula em desenvolvimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Arecaceae). **Acta Amazônica**, v.35, p. 339- 344. 2005.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: in practice**. Edington: Exegetics, 1361p. 1996.
- GUARIM NETO, G. **Riqueza e exploração da flora**. In: IBAMA, Amazônia: uma proposta interdisciplinar de educação ambiental: temas básicos. Brasília. p.193-223. 1994.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.
- LIMA, L.P.; GUTEMBERG, A.D.G.; MING, L.C.; MACEDO, M.R.A. Ocorrências e usos do Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart) em comunidades ribeirinhas, quilombolas e de agricultores tradicionais no município de Irituia, Pará. **Amazônica: Revista de Antropologia**, v.5, p. 762-778. 2013.
- LLERAS, E.; GIACOMETTI, D.C.; CORADIN, L. Areas críticas de distribución de palmas en Ias Américas para colecta, evaluación y conservación. Pp. 67-101. In: Informe de Ia reunión de consulta sobre palmeras poco utilizadas de America Tropical. FAO, Turrialba. **Acta Botânica Brasileira**, v.17, n. 3, p. 343-353. 1983.
- LOPES, M.T.G.; MACÊDO, J.L.V.; LOPES, R.; VAN LEEUWEN, J.; RAMOS, S.L.F.; BERNARDES, L.G. **Domestication and breeding of the Tucum Palm**. Em: Domesticacion and breeding: Amazonian species. A. Borém, M.T.G Lopes, C.R. Clement & H. Noda (coordenadores). Viçosa. pp. 421-436. 2012.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; COSTA, J.T.; CERQUEIRA, L.S.C.; FERREIRA, E. **Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas**, 466p., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2004.
- MAIA, G.C.H.M. et al. Effects of *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Tucumã) on Diet-Induced Dyslipidemic Rats. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2014, p. 1-9, 2014.
- MATOS, K.A.N.; LIMA, D.P.; BARBOSA, A.P.P.; MERCADANTE, A.Z. CHISTÉ, R.C. Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactrisgasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. **Food Chemistry**, v. 272, p. 216-221, 2019.
- MIRANDA, I.P. DE A.; BUENO, C.R.; BARBOSA, E.M.; RIBEIRO, M.N.S. **Frutos e Palmeiras da Amazônia**, MCT/INPA, Manaus. 120p. 2001.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.
- NAZÁRIO, P.; FERREIRA, S.A.N. Emergência de plântulas de *Astrocaryum aculeatum* G. May. em função da temperatura e do período de



embebição das sementes. **Acta da amazônica**, v. 40, n. 1, p.165-170. 2010.

ODETOLA, J.A. Studies on seed dormancy, viability, and germination in ornamental palms. **Principes**, v. 31, n.1, p. 24-30. 1987.

OLIVEIRA, L.P. **Seleção e aproveitamento biotecnológico de frutos da Amazônia para elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 177p. 2007.

ONGARATTO, F.; BONADIMAN, B.S.R.; MARAFON, F.; KOSVOSKI, G.C.; CHAVES, C.C.; CHAVES, C.M. Efeito *in vitro* do extrato de Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em células mononucleares de sangue periférico. **Brazilian Journal of Health Review**, v.3, n.3, p. 5055-5062 may./jun. 2020.

PANICKER, B.; THOMAS, P.; JANAKIRAM, T.; VENUGOPALAN, R.; NARAYANAPPA, S.B. Influence of cytokinin levels on *in vitro* propagation of shy suckering chrysanthemum "Arka Swarna" and activation of endophytic bacteria. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.43, p. 614-622. 2007.

PARANJPTHY, K.; OTHAMAN, R. **In vitro propagation of oil palm**. In: International congress of Plant Tissue Culture, 5., Tokio. Proceedings... Tokio: Japanese Association For Plant Tissue Culture, p.747-748. 1982.

RAMOS, S.L.F. **Sistema reprodutivo do tucumazeiro (*Astrocaryum aculeatum* Mayer)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e ambientais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 71 pp. 2008.

SÁ, S.T.V. **Superação da dormência de sementes de tucumã (*Astrocaryum tucumã* Mart.)**. Monografia (Graduação), Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 53p. 1984.

SILVA, S.; ASTOLFI FILHO, S. Effect of indolebutyric acid on *in vitro* root production of *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Fitos**, v.12, n.3, p. 218-226, 2018.

SOUZA FILHO, O.C.; SAGRILLO, M.R.; GARCIA, L.F.; MACHADO, A.K.; CADONÁ, F.C.; RIBEIRO, E.E. et al. The *In Vitro* Genotoxic Effect of Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*), an Amazonian Fruit Rich in Carotenoids. **Journal of Medicinal Food**, v.16, p. 1013-1021. 2013.

THOMAS, P. & ASWATH, C. Alcohol-mediated horizontal spread of *bacillus* spores and assessing the recurrent sterilization needs of culture-handling tools contaminated with hardy spores. **Proceedings National Academy of Sciences**, v. 83, p. 207-213. 2013.

TISSERAT, B. Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. **Journal of Experimental Botany**, v.30, n.19, p.1275-1283. 1979.

YUYAMA, L.K.O.; MAEDA, R.N.; PANTOJA, L.; AGUIAR, J.P.L.; MARINHO, H.A. Polpa e casca de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer): quais os constituintes nutricionais? In: Congresso Nacional Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 8. Nutrire: **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, V. 30, Suplemento, p. 225, 2005.