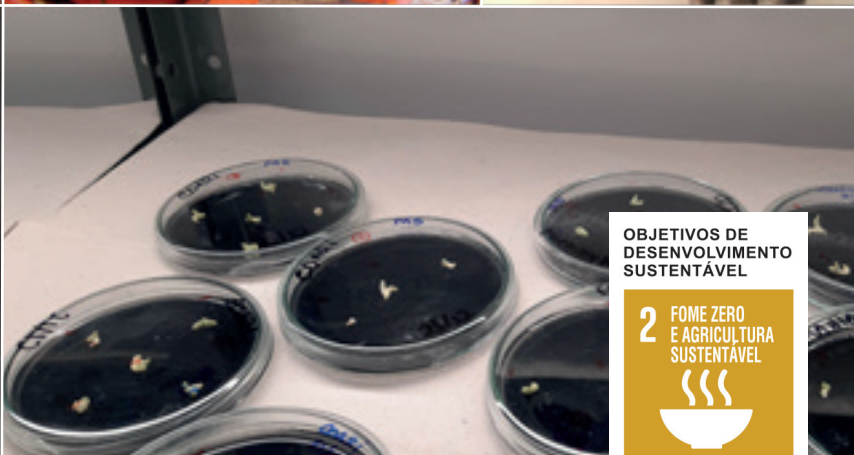




OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

2 FOME ZERO
E AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL



COMUNICADO
TÉCNICO

156

Manaus, AM
Novembro, 2021

Embrapa

Metodologia para análise da viabilidade de sementes de caiaué pelo teste do tetrazólio e germinação do embrião in vitro

Eduardo José Dias da Silva
Cibelle Azamora dos Santos
Pamela Keiko Harada
Marcelo Domingues Martins Raizer
Ricardo Lopes

Metodologia para análise da viabilidade de sementes de caiaué pelo teste do tetrazólio e germinação do embrião in vitro^{1, 2}

¹ Cadastro nº A0EDF67 (SisGen).

² Eduardo José Dias da Silva, mestrando em Agricultura no Trópico Úmido, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Manaus, AM. Cibelle Azamora dos Santos, mestranda em Agricultura no Trópico Úmido, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Manaus, AM. Pamela Keiko Harada, engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia, mestre em Processos Biotecnológicos, analista da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM. Marcelo Domingues Martins Raizer, engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia Tropical, bolsista Fixam – Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM. Ricardo Lopes, engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

O caiaué (*Elaeis oleifera* (Kunch) Cortés) é uma palmeira oleaginosa incipientemente domesticada, nativa das Américas do Sul e Central (Clement, 1999; Rios et al., 2015). Populações tradicionais das Américas Central e do Sul utilizam o óleo extraído da polpa dos frutos do caiaué para alimentação humana, tratamento de pele e de cabelo; a polpa dos frutos é usada na produção de mingau, e os resíduos, como fonte de alimento para criação de porcos (Patiño, 2002; Munguia; Collins, 2006). Verifica-se ainda o uso da planta na arborização e paisagismo urbano (Lima et al., 2017b).

Além da importância que a espécie possui para populações tradicionais, o caiaué é utilizado em praticamente todos os programas de melhoramento genético da palma de óleo (*E. guineensis* Jacq.) existentes na América Latina,

principalmente devido à resistência que apresenta à anomalia denominada amarelamento fatal (AF), à qual a palma de óleo é suscetível. Cultivares híbridas interespecíficas entre o caiaué e a palma de óleo (HIE OxG) são indicadas como a única alternativa para o cultivo da palma de óleo em áreas de ocorrência do AF. No Brasil, o programa de melhoramento genético da palma de óleo desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) lançou em 2009 a primeira cultivar HIE OxG (Cunha; Lopes, 2010), e avanços têm sido obtidos no melhoramento interespecífico entre o caiaué e a palma de óleo (Gomes Júnior et al., 2019). Além da resistência ao AF, o caiaué apresenta óleo mais insaturado, com menor acidez e maior conteúdo de vitaminas e antioxidantes, menor crescimento em altura e resistência a diversas pragas e doenças, por isso é uma espécie de grande

importância para o melhoramento genético da palma de óleo.

A propagação do caiaué é realizada por sementes, que, assim como as sementes das demais espécies do gênero *Elaeis*, são classificadas como intermediárias: quando submetidas ao armazenamento, suportam desidratação parcial e podem ser armazenadas (Kumar et al., 2015). Contudo, mesmo em condições adequadas de armazenamento, ocorre perda progressiva de viabilidade e vigor das sementes e, geralmente, além de não se obter níveis satisfatórios de germinação após 20 meses, pode ocorrer aumento do percentual de sementes com germinação anormal, impróprias para o plantio (Corrado; Wuidart, 1990; Durand-Gasselin et al., 2000; Karneta et al., 2017). Outra característica das sementes do gênero *Elaeis* é a dormência, que tem origens física e fisiológica (Norsazwan et al., 2016; Cui et al., 2020). Para superação da dormência de sementes do gênero *Elaeis* utiliza-se tratamento térmico, mantendo-as em temperatura de $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Corrado; Wuidart, 1990) por períodos que dependem da espécie e do genótipo (Green et al., 2013; Lima et al., 2017a). Para superação da dormência de sementes de caiaué, Lima et al. (2017b) recomendam ajustar o grau de umidade das sementes para o intervalo de 20% a 23% e tratamento térmico durante 75 dias a $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, condições em que são obtidas taxas de germinação superiores a 70%.

A duração total do processo de superação de dormência e germinação

das sementes de caiaué é de aproximadamente 4 meses (Lima et al., 2017b). O tratamento térmico por 75 dias com temperatura de $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ constante representa considerável consumo de energia, portanto custo. Também é necessário realizar revisões semanais dos lotes para troca de ar dos sacos em que as sementes são mantidas e, no caso de incidência de fungos, realizar tratamento das sementes, o que demanda mão de obra permanente, condições que tornam o processo, além de demorado, oneroso. Além disso, em qualquer situação na qual as sementes precisem ser armazenadas para germinação posterior, que não seja a curto prazo, é necessário monitorar a viabilidade para evitar a perda delas. Diante do exposto, antes de submeter as sementes ao processo de superação de dormência e germinação, é importante saber se elas apresentam viabilidade satisfatória para evitar dispêndio de recursos e tempo com lotes de sementes inviáveis ou com baixa viabilidade.

Para determinar o vigor e a viabilidade das sementes, particularmente daquelas que apresentam dormência, recalcitrância e as que germinam lentamente em testes de rotina, é de amplo uso o teste do tetrazólio (Brasil, 2009). Esse teste já foi aperfeiçoado para análise da viabilidade de sementes de diversas palmeiras, incluindo a análise da viabilidade de embriões de palma de óleo (Green et al., 2016), procedimento que foi validado para análise da viabilidade de embriões de caiaué (Silva et al., 2020). O teste do tetrazólio é baseado

em uma reação bioquímica que só ocorre quando os tecidos estão respirando, e a partir da redução do sal de tetrazólio produz-se um composto vermelho, estável e não difusível que colore de vermelho os tecidos vivos. Como vantagem do teste do tetrazólio podemos destacar a rapidez dos resultados, que para embriões de caiaué podem ser obtidos em menos de 48 horas.

Apesar de ser um teste rápido, relativamente simples e de baixo custo, o teste do tetrazólio fornece apenas uma indicação indireta do potencial de germinação das sementes, pois a viabilidade é inferida pela verificação de tecidos vivos, identificados por uma reação bioquímica que indica que os tecidos estão respirando. Em algumas situações, condições fisiológicas, sanitárias ou genéticas podem limitar a germinação de embriões identificados como viáveis pelo teste do tetrazólio, como verificado em sementes de forrageiras (Ragonha et al., 2018). Outra forma de analisar a viabilidade de sementes de caiaué é pela germinação dos embriões in vitro, obtendo-se, nesse caso, estimativa direta do potencial de germinação dos lotes de sementes. No cultivo do embrião in vitro são fornecidas condições ótimas para germinação, que ocorre sem a necessidade de tratamento para superação de dormência. A taxa de germinação verificada para embriões cultivados in vitro só não será atingida pelo lote original de sementes pelo método convencional se as condições adequadas de superação de dormência e germinação não forem asseguradas, por exemplo, ajuste do grau de umidade

da semente antes e após o tratamento térmico, tempo e temperatura do tratamento térmico, temperatura na germinação, incidência de pragas ou fungos no lote original após a retirada da amostra analisada, etc. Estudos sobre germinação de embriões de caiaué in vitro, utilizando diferentes composições de meios de cultura e genótipos, indicaram que é possível em curto período, aproximadamente 15 dias, verificar a germinação dos embriões, pois nesse período já é possível observar o crescimento e a diferenciação das partes aéreas e radicular (Silva et al., 2019, 2020).

Neste documento são descritas metodologias para obter estimativas do potencial de germinação de sementes de caiaué utilizando o teste do tetrazólio e a germinação de embriões in vitro. Os testes podem ser aplicados em diferentes situações, como: avaliação do potencial de germinação de lotes de sementes que passaram por período de armazenamento e antes de submetê-las aos processos de superação de dormência e germinação, neste caso com objetivo de descartar lotes inviáveis ou com baixa viabilidade, economizando recursos e tempo; durante o armazenamento, para monitorar a perda de viabilidade das sementes ao longo do tempo e definir o tempo máximo para armazenamento; na análise da viabilidade de lotes de sementes recebidos por intercâmbio de germoplasma; na análise da viabilidade ou compatibilidade de cruzamentos específicos em programas de melhoramento; após o tratamento térmico se as sementes não germinaram e for

necessário verificar se estão inviáveis ou se não germinaram por não terem sido atendidas as condições necessárias para superação da dormência e germinação, entre outras aplicações.

Amostragem para análise de viabilidade de lotes de sementes

As sementes de caiaué geralmente são armazenadas em lotes compostos por sementes de um único cacho, os quais apresentam número médio de aproximadamente 500 sementes (Gomes Júnior et al., 2019). Nessas condições, para as análises de viabilidade recomenda-se a amostragem de 10% das sementes do lote, com metade da amostra analisada pelo teste do tetrazólio e metade pelo teste da germinação de embriões in vitro, ou seja, 25 embriões para o teste do tetrazólio e 25 embriões para germinação in vitro. No caso de lotes com número muito superior a 500 sementes, para assegurar a representatividade dos lotes, deve-se aumentar proporcionalmente o tamanho da amostra.

Extração dos embriões

Para extração dos embriões, com o auxílio de um martelo e uma base de ferro, realiza-se primeiro a quebra do endocarpo do diásporo (Figura 1A),

permanecendo o endosperma (amêndoa) com o embrião, que em seguida é extraído com auxílio de uma pinça (Figura 1). Embriões que forem danificados durante o processo de extração devem ser descartados e substituídos, e a amostra composta apenas por embriões íntegros. O mesmo processo de extração dos embriões é utilizado para o teste do tetrazólio e para a germinação in vitro. No entanto, para este último, uma etapa de assepsia da semente é realizada antes da extração do embrião, para evitar a contaminação in vitro, conforme descrito no item referente à germinação in vitro.

Teste do tetrazólio

Para o teste do tetrazólio em embriões de caiaué são utilizadas as mesmas recomendações de Green et al. (2016) para embriões de dendezeiro, que consistem em duas etapas: pré-condicionamento dos embriões e exposição desses embriões à solução do sal de tetrazólio.

Na primeira etapa os embriões são colocados sobre papel germitest umedecido com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel (Figura 2A). Após depositar os embriões sobre o papel, este deve ser dobrado embalando-os de forma que fiquem protegidos e não saiam do papel umedecido. Em seguida, as amostras embaladas em papel umedecido devem ser colocadas no interior de um saco plástico transparente, que deve ser fechado com

ar dentro formando uma câmara úmida (Figura 2B). O pré-condicionamento é realizado mantendo o saco plástico com

as amostras embaladas em papel umedecido em estufa a 35 °C por 12 horas (Figura 2C).

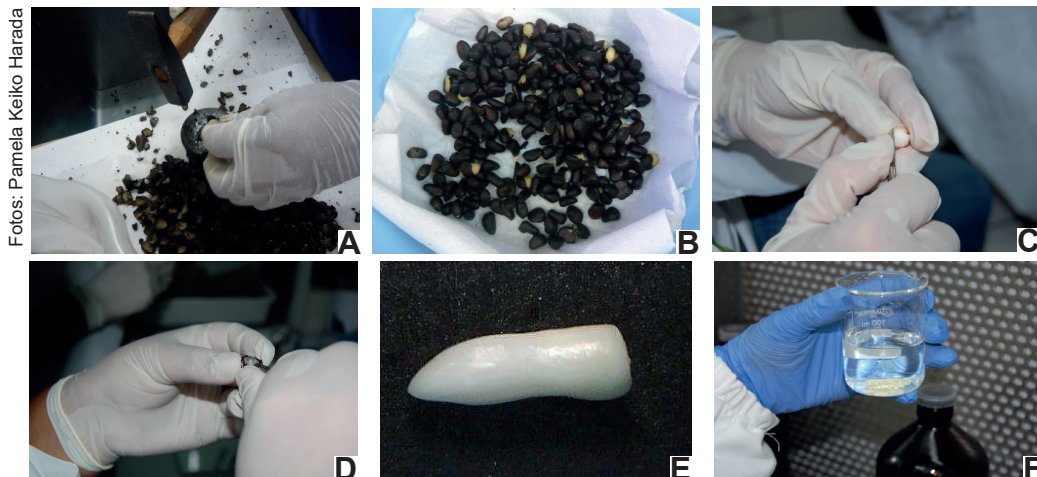


Figura 1. Processo de extração dos embriões da semente: (A) quebra do endocarpo do diásporo; (B) amêndoas (endosperma) com embrião após retirada do endocarpo; (C, D) extração dos embriões; (E) embrião extraído; (F) assepsia dos embriões em solução de hipoclorito de sódio.



Figura 2. Processo de hidratação dos embriões: (A) embriões no papel umedecido; (B) embriões armazenados no saco plástico; (C) embriões na estufa a 35 °C.

Após o pré-condicionamento, os embriões são transferidos para um microtubo com volume total de pelo menos 0,5 mL, volume suficiente considerando uma amostra de 25 embriões, e com o auxílio de uma pipeta é adicionada a solução do sal de tetrazólio (0,075%) em volume suficiente para imersão

completa dos embriões. Como a solução de sal de tetrazólio é fotossensível, os microtubos devem ser envoltos em papel alumínio para evitar a degradação da solução, que pode comprometer os resultados do teste. Os microtubos devem ser mantidos em estufa a 35 °C por 4 horas; em seguida, com auxílio de

uma pinça, os embriões são transferidos para uma placa de Petri, com papel germitest umedecido no fundo da placa para evitar a desidratação dos embriões, que já estão corados e aptos para serem avaliados (Figura 3).

A classificação dos embriões quanto a viabilidade e vigor é realizada pela avaliação individual dos embriões em lupa estereoscópica (4x) considerando ocorrência, intensidade e homogeneidade da coloração de suas estruturas, conforme classificação proposta por Green et al. (2016) para embriões de palma de óleo. Esses autores recomendam a classificação dos embriões em quatro classes: classe I – Sementes viáveis e de alto vigor; classe II – Sementes viáveis e de médio vigor; classe III – Sementes viáveis e de baixo vigor; e classe IV – Sementes inviáveis. São considerados como viáveis os embriões das classes I, II e III, assim a estimativa da proporção de embriões viáveis é obtida pela soma dessas três classes sobre a quantidade total de embriões avaliados. A Figura 4 ilustra a classificação de uma amostra de 25 embriões de caiaué submetidos ao teste do tetrazólio utilizando o padrão de classificação recomendado por Green et al. (2016). No exemplo da Figura 4, em uma amostra de 25 embriões, 16 foram classificados como viáveis (soma das classes I, II e III) e 9 como inviáveis, ou seja, 76% dos embriões viáveis e 24% inviáveis. O percentual de embriões viáveis é utilizado como estimativa do potencial de germinação do lote original de sementes.



Foto: Pamela Keiko Harada

Figura 3. Embriões corados após o período de 4 horas de imersão em solução de tetrazólio (0,075%).

 A photograph of a handwritten classification table for tetrazolium testing. The table is titled 'TETRAZÓLIO' and contains columns for 'LOTE', 'TRAT.', 'CLASSE', and 'RESULTADO'. The results are recorded in red ink.

TETRAZÓLIO			
LOTE:	TRAT.: T1		
CLASSE	RESULTADO		
I	16/25		
II	0/0		
III	0/0		
IV	9/25		

Foto: Pamela Keiko Harada

Figura 4. Classes de vigor e viabilidade de embriões de caiaué submetidos ao teste de tetrazólio.

Germinação dos embriões in vitro

Para germinação dos embriões in vitro, após a extração do endocarpo, é realizada a desinfestação da semente (endosperma + embrião) por imersão

em solução de hipoclorito de sódio (50% de cloro ativo) por 10 minutos, seguida por enxágue em água corrente. Após a desinfestação, os embriões são extraídos do endosperma e imersos em solução de hipoclorito de sódio (5% de cloro ativo) por 5 minutos. A partir dessa fase os procedimentos são realizados em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar. Ao final da desinfestação dos embriões, já no interior da câmara de fluxo laminar previamente esterilizada, são realizadas três lavagens seguidas em água destilada autoclavada para eliminar os resíduos do desinfetante antes de inocular os embriões *in vitro*.

Na germinação de embriões de caiaué foram avaliados os meios de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962), OPCM (Heedchim, 2014) e Y3 (Eeuwens, 1976), mas não foi verificado efeito significativo do meio no percentual de embriões germinados (Silva et al., 2019, 2020). Dessa forma, pode ser utilizado o meio mais convencional na cultura de tecidos, o meio MS. O meio basal deve ser acrescido de sacarose (3%), carvão ativado (0,25%) e ágar (0,7%). O pH do meio deve ser ajustado a 5,8 antes da adição do ágar. Após preparo, o meio deve ser esterilizado em autoclave a 121 °C à pressão de 1,2 atm por 15 minutos.

Para avaliar apenas a germinação inicial, o cultivo dos embriões *in vitro* pode ser realizado em placas de Petri com 1 cm de altura, 9 cm de diâmetro e 30 mL de meio de cultura, com 8 a 10 embriões por placa (Figuras 5A e 5B). A

inoculação dos embriões nas placas de cultivo é realizada com o auxílio de uma pinça, depositando cuidadosamente o embrião sobre o meio de cultura. Após a inoculação, as placas devem ser mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 °C $\pm$ 2 °C, mantendo os explantes no escuro nos 7 primeiros dias após a inoculação *in vitro*, e por mais 8 dias com intensidade luminosa de 30-40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obtida com lâmpadas LED e fotoperíodo de 16 horas. Com 15 dias de cultivo dos embriões *in vitro* é possível diferenciar aqueles em processo de germinação (crescimento e desenvolvimento inicial das partes aéreas e radicular) dos inertes (inviáveis), mas é possível manter os embriões germinados por até 30 dias na mesma placa de cultivo (Figura 5C). Caso haja interesse de acompanhar o desenvolvimento das plântulas, após 30 dias de cultivo nas placas, os embriões germinados devem ser transferidos para frascos de vidro. Em frascos de 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro, com 40 mL do meio de cultura, é possível manter plântulas germinadas por até 60 dias, o que permite acompanhar o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plântulas.

Silva et al. (2020) verificaram correlação de 99% entre a viabilidade avaliada pelo teste do tetrazólio e a germinação de embriões *in vitro*. Na Figura 6 são apresentados resultados obtidos com nove lotes de sementes de caiaué submetidos ao teste do tetrazólio e à germinação de embriões *in vitro* de acordo com os procedimentos descritos neste documento, entre os quais a correlação foi de 95,6%.

Os valores são superiores à correlação de 90% entre a viabilidade de embriões de palma de óleo avaliada pelo teste do tetrazólio e a germinação das sementes pelo método convencional relatada por Green et al. (2016). A alta correlação entre os resultados indica que a estimativa de viabilidade das sementes de caiaué obtida pelo teste do tetrazólio aplicado nos embriões pode ser utilizada como estimativa indireta do potencial de germinação das sementes. Contudo, o uso combinado do teste do tetrazólio com a germinação dos embriões in vitro tem como vantagem proporcionar estimativa

mais precisa e confiável do potencial de germinação de sementes. No caso do uso combinado dos dois testes, primeiro deve-se realizar o teste do tetrazólio, que permite em menos de 48 horas estimar o percentual de sementes com embriões vivos, portanto uma estimativa indireta do potencial de germinação, já descartados os lotes inviáveis ou com baixa viabilidade. Na sequência, os lotes que apresentaram estimativas de viabilidade satisfatórias pelo teste do tetrazólio são amostrados para análise da germinação de embriões in vitro e confirmação do potencial de germinação dos lotes.



Fotos: Eduardo José D. da Silva

Figura 5. (A, B) inoculação in vitro de embriões de caiaué em placas de Petri; (C) placas com embriões germinando após 15 dias da inoculação.

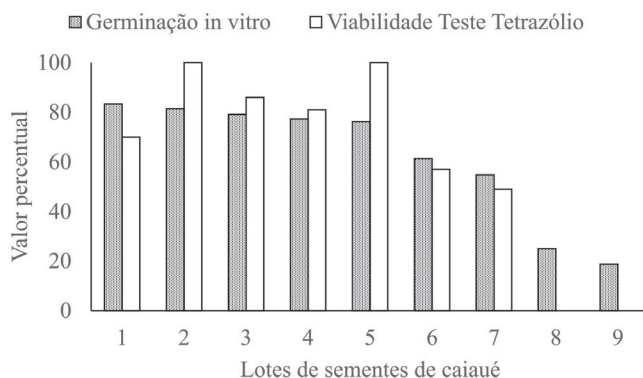


Figura 6. Valores de viabilidade pelo teste do tetrazólio e da germinação dos embriões in vitro de amostras de nove diferentes lotes de sementes de caiaué. Correlação de Pearson entre valores = 0,956 (probabilidade pelo teste de Mantel = 0,0095).

Agradecimentos

À assistente Rosimar Fernandes de Souza, do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, pelo apoio nos experimentos de germinação in vitro realizados no desenvolvimento deste trabalho; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), pelo financiamento do Projeto Fixam, processo nº 062.01529/2018 – Edital 005/2018.

Referências

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395 p.
- CLEMENT, C. R. 1492 and the loss of Amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. **Economic Botany**, v. 53, p. 188-202, 1999.
- CORRADO, F.; WUIDART, W. Germination des graines de palmier à huile (*E. guineensis*) em sacs de polyéthylène. Méthode par "charleur sèche". **Oléagineux**, v. 45, n. 11, p. 511-514, 1990.
- CUI, J.; LAMADE, E.; TCHERKEZ, G. Seed germination in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.): a review of metabolic pathways and control mechanisms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 12, p. 4227, 2020.
- CUNHA, R. N. V. da; LOPES, R. **BRS Manicoré**: híbrido interespecífico entre o caiaué e o dendezeiro africano recomendado para áreas de incidência do amarelecimento-fatal. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. 3 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado técnico, 85).
- DURAND-GASSELIN, T.; KOUAMÉ, K. R.; COCHARD, B.; ADON, B.; AMBLARD, P. Diffusion vériétale du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, v. 7, n. 2, p. 207-214, 2000.
- EEUWENS, C. J. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured in vitro. **Physiologia Plantarum**, v. 36, n. 11, p. 23-28, 1976.
- GOMES JÚNIOR, R. A.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; PINA, A. J. A.; QUARESMA, C. E.; CAMPELO, R. D.; RESENDE, M. D. V. Selection gains for bunch production in interspecific hybrids between caiaué and oil palm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. e00819, 2019.
- GREEN, M.; LIMA, W. A. A.; FIGUEIREDO, A. F.; ATROCH, A. L.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; TEIXEIRA, P. C. Heat-treatment and germination of oil palm seeds (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Journal of Seed Science**, v. 35, p. 296-301, 2013.
- GREEN, M.; LIMA, W. A. A.; FIGUEIREDO, A. F.; QUISEN, R. C.; LOPES, R. Teste de tetrazólio em embriões de sementes de dendezeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 59, p. 203-207, 2016.
- HEEDCHIM, V. **Molecular markers and flow cytometry for identification of abnormal oil plantlet in vitro (in Thain)**. 2014. 119 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Prince of Sonkla, Tailândia.

KARNETA, R.; DELITA, K.; INDRATA, B. The viability of oil palm seeds during storage and heating. **International Journal of Engineering Research and Science & Technology**, v. 6, n. 2, p. 1-11, 2017.

KUMAR, P. N.; BABU, D. S. S.; RAVICHANDRAN, G.; SATYANARAYANA, M. A. G.; MANDAL, G.; RAMAJAYAM, D. Effect of low temperature storage on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) seed viability. **International Journal of Tropical Agriculture**, v. 33, n. 1, p. 1-6, 2015.

LIMA, W. A. A.; LOPES, R.; GREEN, M.; CUNHA, R. N. V. **Germinação de Sementes de *Elaeis* spp.** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2017a. 8 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Circular Técnica, 62).

LIMA, W. A. A.; GREEN, M.; ZEVIANE, W. M.; LOPES, R.; RIOS, S. A. Teor de água e tempo de exposição ao tratamento térmico na germinação de sementes de caiaué. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 2, p. 192-198, 2017b.

MUNGUA, O.; COLLINS, J. Óleo de ojon. **Revista Passo a Passo**, n. 65, p. 10, 2006.

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

NORSAZWAN, M. G.; PUTEH, A. B.; RAFIL, M. Y. Oil palm (*Elaeis guineensis*) seed dormancy type and germination pattern. **Seed Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 15-26, 2016.

PATÍÑO, V. M. **Historia y dispersión de los frutales nativos del Neotrópico**. Cali: CIAT, 2002. 655 p.

RAGONHA, E. P.; OLIVEIRA, G. P. de; SILVA, D. C. B. da. Comparação dos testes de germinação e tetrazólio para análise de vigor de sementes de forrageiras. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 12, n. 2, p. 63-66, 2018.

RIOS, S. A.; CUNHA, R. N. V.; LOPES, R.; BARCELOS, E.; LIMA, W. A. A.; RODRIGUES, M. R. L.; KRUG, C.; BITTENCOURT, D. M.; QUISEN, R. Q.; GOMES JUNIOR, R. A.; ROCHA, R. N. C. Caiaué. In: LOPES, R.; OLIVEIRA, M. S. P.; CAVALLARI, M. M.; BARBIERI, R. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. (org.). **Palmeiras nativas do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. v. 1, p. 211-246.

SILVA, E. J. D. da; ARAUJO, D. S.; SANTOS, C. A. dos; LOPES, R.; HARADA, P. K.; CYSNE, A. Q. Viabilidade e germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, 16., 2019, Manaus. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2020. p. 79-87.

SILVA, E. J. D. da; FAÇANHA, D. C.; SANTOS, C. A. dos; LOPES, R.; QUISEN, R. C.; HARADA, P. K. Germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, 15., 2018, Manaus. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 31-39.

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara
69010-970, Manaus, Amazonas
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7820
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Publicação digital – PDF (2021)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Amazônia Ocidental

Presidente

Inocencio Junior de Oliveira

Secretária-executiva

Gleise Maria Teles de Oliveira

Membros

José Olenilson Costa Pinheiro,

Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa e

Maria Perpétua Beleza Pereira

Supervisão editorial e revisão de texto

Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica

Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa

(CRB 11/420)

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Gleise Maria Teles de Oliveira

Fotos da capa

Pamela Harada e Ricardo Lopes

CGPE: 017149