

AVALIAÇÃO DA DETERIORAÇÃO EM SEMENTES DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL PELO TESTE DE TETRAZÓLIO¹

IVO PEREIRA DE CAMARGO², MARIA LAENE MOREIRA DE CARVALHO
e MARIA DAS GRAÇAS GUIMARÃES CARVALHO VIEIRA³

RESUMO - O presente trabalho teve por objetivo estabelecer padrões de coloração mediante o teste de tetrazólio, que permitam avaliar a qualidade fisiológica de sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl.). Trinta dias após o armazenamento sob condições ambientais de laboratório, e, posteriormente, a cada 15 dias, até um total de 105 dias, foram avaliados o grau de umidade e os padrões de coloração na secção interna das amêndoas. Com o tempo de armazenamento, houve diminuição no grau de umidade, na porcentagem de amêndoas com coloração rósea, e aumento na porcentagem de amêndoas com manchas brancas. A coloração branca tendeu a tomar toda a secção interna da amêndoa, o que indica evolução da perda de água e deterioração das sementes.

Termos para indexação: armazenamento, amêndoa, semente recalcitrante.

EVALUATION OF THE DETERIORATION IN BRAZIL NUT SEEDS BY THE TETRAZOLIUM TEST

ABSTRACT - The objective of this work was to establish coloration patterns by the tetrazolium test that allows evaluation of the physiological quality of the Brazilian nut seeds (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl.). After 30 days of storage in laboratory environmental conditions, and thereafter, every 15 days, at amount of 105 days, the moisture content and the coloration patterns in the internal sections of kernels were evaluated. With the storage time there was a decrease in the moisture content and in the percentage of the kernels with pink color and an increase in the percentage of kernel with white blots. The white coloration tended to fill up all the internal sections of the kernel indicating that there is possibly an association with the evolution of water loss and deterioration of the seeds.

Index terms: storage, kernel, recalcitrant seed.

¹ Aceito para publicação em 28 de novembro de 1996.

² Eng. Agr., D.Sc., Dep. Fitotecnia/Fitossanidade, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Corrêa s/n^o, CEP 78060-900 Cuiabá, MT.

³ Eng^a Agr^a, D.Sc., Dep. Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG.

INTRODUÇÃO

A castanheira-do-brasil é uma espécie nativa da Amazônia, produtora de sementes oleaginosas e ricas em proteínas de boa qualidade. Uma das maiores dificuldades para sua propagação é o processo germinativo lento e desuniforme, contornado, em parte, pela remoção do tegumento lenhoso (Müller & Freire, 1979; Müller, 1982). As sementes desta espécie apresentam comportamento recalcitrante, com diminuição da capacidade de germinação ao se reduzir o grau de umidade (Figueiredo et al., 1990a). Sementes armazenadas em sacos de aniagem, nas condições ambientais de Belém, mostraram queda acentuada na germinação nos primeiros 90 dias de armazenamento ao ser reduzida a umidade de 19,6% para 11,2% (Figueiredo et al., 1990b).

Segundo Müller (1982), para obter sucesso com a propagação da castanheira, é fundamental o uso de sementes recém-colhidas que não tenham perdido umidade. O desenvolvimento de métodos para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de castanheira pode auxiliar na tomada de decisão quanto ao uso ou descarte de lotes destinados à produção de mudas.

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico que se baseia na atividade enzimática dos tecidos, no qual o sal de tetrazólio incolor e solúvel reage com íons hidrogênio e se transforma no pigmento formazan, insolúvel e de cor vermelha (Delouche et al., 1976). Segundo estes autores, a reação permite delineamento bastante nítido

entre o tecido que respira, que adquire cor vermelha característica, daquele que não respira e que mantém sua cor original.

Este teste pode ser usado para a avaliação da viabilidade em sementes de espécies florestais, principalmente nas que requerem longo período de germinação (Rodrigues & Santos, 1988), mas poucas pesquisas tem sido efetuadas com a castanheira. Neste sentido, Reis et al. (1979), em trabalho pioneiro, identificaram coloração vermelha intensa no interior de sementes, como indicativo da localização do embrião, e do alto potencial de viabilidade. Este trabalho deixa dúvidas sobre o potencial de uso deste teste, para a avaliação da viabilidade em sementes desta espécie, pois os autores utilizaram sementes armazenadas em sacos de aniagem por dez meses, em condições de ambiente natural da Amazônia, e constataram alto potencial de viabilidade.

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer padrões de coloração pelo teste de tetrazólio, que permitam avaliar a qualidade fisiológica de sementes de castanheira-do-brasil com diferentes graus de umidade e períodos de armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), de dezembro de 1994 a abril de 1995. Foram utilizadas sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl.), coletadas no norte do Estado de Mato Grosso, com umidade média de, aproximadamente 18%. As sementes foram mantidas em sacos de aniagem, em condições ambientais do LAS, e, a partir do 30^a dia de armazenamento, a intervalos de 15 dias, até um total de 105 dias. Foram avaliados o grau de umidade e os padrões de coloração das sementes submetidas ao teste de tetrazólio. As temperaturas médias e a umidade relativa do ar durante o período experimental encontram-se na Tabela 1.

As determinações de umidade foram efetuadas pelo método de estufa a 105°C, por 24 horas (Brasil, 1992), sendo utilizadas quatro repetições de 20 g de amêndoas, e o teste de tetrazólio, de acordo com o método modificado de Reis et al. (1979).

A testa lenhosa das sementes foi retirada com auxílio de prensa manual e alicate. As amêndoas foram seccionadas longitudinalmente e submetidas à embebição, por 12 horas, em água destilada, com posterior imersão em solução de 2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio a 0,5%, por seis horas, sob temperatura de 30°C no escuro. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis épocas de avaliação e quatro repetições de 25 sementes cada.

Os padrões de coloração foram avaliados na secção interna das amêndoas, e foram obtidas as colorações rósea, e rósea com manchas brancas na parte central. Após 75 dias de armazenamento, dado o aparecimento de manchas brancas de maior dimensão, foram atribuídas notas. A nota 1 representava amêndoas com 10% da secção interna branca; a nota 2, de 10% a 50%, e a nota 3, mais de 50%.

Os dados em porcentagem de amêndoas com os diferentes padrões de coloração e em porcentagem de água nas amêndoas durante os períodos de armazenamento foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variâncias e a análise de variância pelo teste F ao nível de 1% e 5%, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 1. Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar, durante o período experimental. Lavras, MG.

Mês	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
Dezembro (94)	22,5	76
Janeiro (95)	23,8	73
Fevereiro	22,8	84
Março	22,5	75
Abril	20,6	77

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes aos padrões de coloração obtidos pelo teste de tetrazólio e aos graus de umidade das amêndoas, nos diferentes períodos de armazenamento, diferiram significativamente entre si, sendo que os valores médios de umidade decresceram até os 60 dias de armazenamento, com posterior tendência de estabilização em torno de 5% (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Figueiredo & Carvalho (1994), que nas condições ambientais de Belém detectaram o ponto de equilíbrio entre a umidade do ambiente

e a de sementes de castanheira armazenadas em sacos de anagem, em torno de 6%. Também observou-se semelhança entre as duas regiões, na porcentagem média de redução do grau de umidade, que foi de 4,3% ao mês em Lavras e de 3,1% ao mês em Belém (Figueiredo & Carvalho, 1994), devendo, a diferença de 1,2% ao mês, ser creditada principalmente a diferenças na umidade relativa do ar entre as duas localidades.

TABELA 2. Valores médios do grau de umidade e do percentual de amêndoas com manchas de coloração branca na secção interna, obti-das pelo teste de tetrazólio, em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a di-ferentes períodos de armazenamento. Lavras, 1995¹.

Período de armazenamento (dias)	Grau de umidade (%)	Amêndoas com manchas de cor branca (%)
30	9,2a	67,2c
45	8,6b	75,0b
60	5,2c	80,0ab
75	5,0c	80,0ab
90	4,9c	80,7a
105	4,5d	84,0a
Coefficiente de variação	3,0	3,3

¹ Em cada coluna, médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os padrões de coloração observados na secção interna das amêndoas variaram de róseo, nas sementes viáveis até branco nas sementes mortas (Fig. 1). Na maioria dos casos, a coloração branca foi observada inicialmente na parte central da amêndoa, estendendo-se para a periferia.

Além do aspecto cor, também foi observada a consistência dos tecidos, constatando-se que áreas de coloração branca apresentavam-se mais flácidas. Moore (1972) comenta sobre a importância de considerar associados à coloração, aspectos de turgidez e consistência dos tecidos, para determinar com precisão o estado de deterioração da semente.

A porcentagem de amêndoas que apresentavam coloração interna com manchas brancas, aumentou significativamente dos 30 aos 60 dias de armazenamento, com posterior tendência de estabilização em torno de 80% das amêndoas com este padrão.

As curvas de regressão dos valores de umidade e o percentual de amêndoas com coloração branca em relação ao tempo de armazenamento encontram-se na Fig. 2. O coeficiente de correlação simples entre estas duas variáveis foi negativo, com valor de r igual a $-0,87$, o que indica que o aumento no percentual de amêndoas com manchas brancas em consequência da deterioração está associado à redução do grau de umidade. Esses resultados reforçam os obtidos por Figueiredo et al. (1990a), que observaram redução da capacidade germinativa das sementes de castanheira, com o decréscimo do grau de umidade.

No 30^o dia de armazenamento, 32,8% das amêndoas apresentavam coloração rósea homogênea e tecidos mais túrgidos, porém não se observou coloração vermelha intensa no interior da amêndoa, que, segundo Reis et al. (1979), seria um indicativo da localização do embrião. Na periferia da amêndoa, observou-se nítida distinção de tecidos hipodérmicos com coloração rósea mais intensa, indicando maior atividade respiratória. É possível que esses tecidos sejam a causa da diferenciação das estruturas germinativas; são descritos por Vaughan (1970) como sendo um anel de tecido procambial circundado por células de parênquima e endosperma.

A partir do 75^o dia de armazenamento, a área ocupada pelas manchas brancas no interior das amêndoas tendeu a aumentar, sendo então agrupadas em três classes de tamanho (Fig. 3). Os valores médios das porcentagens de amêndoas classificadas com notas 1, 2, e 3 encontram-se na Tabela 3. Do 75^o ao 105^o dia de armazenamento, observou-se tendência de crescimento na porcentagem de amêndoas com mais de 50% da área branca, que evoluiu de 28% para 36,3%.

Estes resultados indicam que há grande potencial para o uso do teste de tetrazólio, na avaliação da qualidade de sementes de castanheira; porém, novos estudos devem ser efetuados, para correlacionar os

padrões de coloração com a germinação e para acompanhar as modificações morfológicas, que, segundo Reis et al. (1979), resultam na diferenciação do embrião.

O teste de tetrazólio permitiu detectar danos mecânicos externos nas amêndoas, originados no processo de retirada da testa (Fig. 4), o que reforça os relatos de Moore (1966) sobre a necessidade de aprender a reconhecer ferimentos causados pela preparação. Este fato torna este teste promissor para a avaliação de diferentes processos utilizados na retirada da testa lenhosa que recobre a amêndoa e possibilita o aprimoramento desta técnica.



FIG. 1. Padrões de coloração obtidos pelo teste de te-trazólio nas secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil.

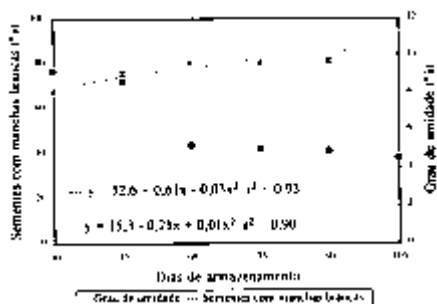


FIG. 2. Curvas de regressão dos valores de umidade e percentual de amêndoas com coloração branca obtidas pelo teste de tetrazólio, em relação ao tempo de armazenamento.



FIG. 3. Diferentes categorias de amêndoas classificadas de acordo com a área de coloração interna branca, obtidas pelo teste de tetrazólio. Nota 1- até 10% da área da secção interna da amêndoa com cor branca; nota 2- de 10 a 50%; nota 3- mais de 50%.

TABELA 3. Valores médios do percentual das amêndoas com manchas de coloração branca na secção interna, classificadas nas diferentes categorias, pelo teste de tetrazólio em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. Lavras, 1995¹.

Período de armazenamento (dias)	Nota 1 ¹ -----(% de amêndoas)-----	Nota 2	Nota 3
75	27,7	24,3	28,0
90	22,5	26,0	32,2
105	22,2	25,5	36,3

¹ Nota 1 = amêndoas com 10% da secção interna branca; nota 2 = amêndoas com 10% a 50% da secção interna branca; nota 3 = amêndoas com mais de 50% da secção interna branca.



FIG. 4. Comparação entre amêndoas de castanheira-do-brasil sem danos (primeira a direita) e com danos mecânicos observados após o teste de tetrazólio.

CONCLUSÕES

1. Sementes de castanheira-do-brasil com maior umidade e menor período de armazenamento, submetidas ao teste de tetrazólio, apresentam coloração interna rósea homogênea, o que indica alta qualidade fisiológica.
- 2 A evolução do processo deteriorativo em sementes de castanheira-do-brasil está associada à redução do grau de umidade durante o período de armazenamento.
3. A deterioração dos tecidos inicia-se pela parte central da amêndoa, estendendo-se para a parte periférica.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.
- FIGUEIREDO, F.J.C.; CARVALHO, J.E.U. de. **Avaliação de características recalitrantes de sementes de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1994. 17p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 154).
- FIGUEIREDO, F.J.C.; CARVALHO, J.E.U. de; FRAZÃO, D.A.C. **Nível crítico de umidade e seus efeitos sobre a emergência de plântulas de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1990a. 17p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 113).
- FIGUEIREDO, F.J.C.; DUARTE, M. de L.R.; CARVALHO, J.E.U. de; FRAZÃO, D.A.C. **Armazenamento de sementes de castanha-do-brasil sob condições não controladas**. Belém: Embrapa-CPATU, 1990b. 36p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 106).
- MOORE, R.P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, Louisville, v.44, n.3, p.22-24, 1972.
- MOORE, R.P. Tetrazolium test for diagnosing causes for seed weariness and for predicting and understanding performance. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v.56, p.70-73, 1966.
- MÜLLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1982. 40p. (Embrapa-CPATU. Documentos, 16).
- MÜLLER, C.H.; FREIRE, F. das C.O. **Influência de fungicidas na conservação e na germinação de amêndoas de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1979. 9p. (Embrapa-CPATU. Comunicado Técnico, 26).
- REIS, G.G. dos; CARVALHO, J.E.U.; MÜLLER, C.H. **Calibração do teste de tetrazólio para sementes de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1979. 9p. (Embrapa-CPATU. Comunicado Técnico, 17).
- RODRIGUES, F.C.M.P.; SANTOS, N.R.F. dos. Teste de tetrazólio. In: RODRIGUES, F.C.M.P. (Coord.). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fund. Cargil, 1988. p.91-100.
- VAUGHAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds**. London: Chapman & Hall Ltd., 1970. 279p.