

06499
CAPTU
1979

INSTITUTO BRASILEIRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
do Ministério da Agricultura
e de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido

FL-06499

P. 00-09

JAN 1979

Travessa Dr. Enéas Pinheiro s/n
Caixa Postal N.º 48 - 66.000 - Belém-Pa

comunicado
técnico

CALIBRAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SE-
MENTES DE CASTANHA-DO-BRASIL

GERALDO GONÇALVES DOS REIS

JOSE EDMAR URANO DE CARVALHO

CARLOS HANS MULLER

FRANCISCO JOSE CÂMARA FIGUEIREDO

Calibração do teste de
1979 FL-06499



31133-1

EMBRAPA

CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO TRÓPICO ÚMIDO

COMUNICADO TÉCNICO Nº 17

CALIBRAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SE-
MENTES DE CASTANHA-DO-BRASIL

GERALDO GONÇALVES DOS REIS
Engº Florest, M.S. em Fisiologia Vegetal,
Pesquisador do CPATU

JOSE EDMAR URANO DE CARVALHO
Engº Agrº, Pesquisador do CPATU

CARLOS HANS MULLER
Engº Agrº, M.S. em Fitotecnia,
Pesquisador do CPATU

FRANCISCO JOSE CÂMARA FIGUEIREDO
Engº Agrº, M.S. em Tecnologia de Sementes,
Pesquisador do CPATU

BELEM

CPATU

janeiro de 1979

Reis, Geraldo Gonçalves dos

Calibração do teste de tetrazólio em sementes de castanha-do-Brasil. Belém, CPATU, 1979.

9p. ilust. (Comunicado Técnico, 17).

1. Sementes - Testes de laboratório. 2. Sementes de castanha-do-Brasil - Testes de laboratório. 3. Teste de tetrazólio. I. Carvalho, José Edmar Urano de. II. Müller, Carlos Hans. III. Figueiredo, Francisco José Câmara. IV. Série. V. Título.

CDD: 634.57521028

CDU: 634.575:631.53.02.001.41

CALIBRAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SE-
MENTES DE CASTANHA-DO-BRASIL

S U M Á R I O

	P.
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	2
3 - <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	3
4 - <u>CONCLUSÕES</u>	4
5 - <u>ANEXOS</u>	6
5.1 - ASPECTO DE UMA "MEIA SEMENTE" APÓS O CORTE LONGITUDI- NAL	6
5.2 - "MEIA SEMENTE" MOSTRANDO A LOCALIZAÇÃO DO EMBRIÃO DA SEMENTE DE CASTANHA-DO-BRASIL	6
6 - <u>FONTES CONSULTADAS</u>	7

CALIBRAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE CASTANHA-DO-BRASIL

RESUMO: Sementes de castanha-do-Brasil com dez meses de colhidas e armazenadas em sacos de aniagem foram cortadas longitudinalmente e submetidas a diferentes tempos de exposição em solução de tetrazólio a 0,5% após embebição em água destilada (20 horas) ou em solução aquosa de fungicida merpazine (princípio ativo "acetato de fenilmercúrio") a 1%. A área não diferenciada do embrião apresentou perfeito contraste de coloração vermelho intenso no intervalo de 10 a 20 minutos na solução de tetrazólio após embebição em água destilada. A embebição de sementes em solução aquosa do fungicida prejudicou a área de diferenciação do embrião. O uso adequado de tetrazólio presta-se para a avaliação de viabilidade de sementes de castanha-do-Brasil e possibilita a localização e o acompanhamento do desenvolvimento do embrião durante a germinação, que o torna importante na explicação do mecanismo controlador da germinação das sementes.

1 - INTRODUÇÃO

O processo germinativo das sementes de castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa, H.B.K.) (v.6-1 e 6-21) é lento e irregular, assim como a percentagem de germinação dessas sementes é baixa, sugerindo, dentre outros fatores, a possibilidade de deterioração antes do semeio, possivelmente em decorrência das excessivas intermediações após a coleta (v.6-2) como também, após semeadas, devido principalmente, ao ataque de fungos.

Observações têm mostrado que sementes de castanha-do-Brasil, armazenadas em sacos de aniagem por mais ou menos 2 anos, em ambiente de laboratório, apresentam odores características de rancidificação e espaços vazios na amêndoa, sendo provável que esses últimos sejam causados pela aparente desidratação dos tecidos,

uma vez que o tegumento dessa semente parece não ser barreira efetiva às trocas hídricas (v.6-19 e 6-22). Os graus desses distúrbios podem ser avaliados através do teste de tetrazólio (v.6-7,-9,-10,-11,-14,-15,-16,-17,-18).

O teste de tetrazólio, além de figurar como indicador da viabilidade de sementes (v.6-3,-4,-5,-6), também poderá oferecer subsídios para a explicação do mecanismo controlador da germinação de sementes de castanha-do-Brasil, possibilitando acompanhar o desenvolvimento de embrião durante o processo germinativo, assim como favorecer a sua localização, o que constitui objeto desse estudo.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de castanha-do-Brasil, de 10 meses depois de colhidas em castanhais da região de Marabá-Pará e armazenadas em sacos de aniagem em ambiente de laboratório.

Ensaio preliminares indicaram ser mais apropriado, na interpretação do teste de tetrazólio nessas sementes, a aplicação de corte longitudinal no sentido dos polos da semente inteira e seca, e a embebição das "meias sementes" (v.Fig.1) do que a embebição de sementes inteiras ou descascadas, processando-se o corte por ocasião do tratamento das mesmas.

Assim, as sementes foram cortadas longitudinalmente e as "meias sementes" embebidas em água destilada por 20 horas. Após esse período de embebição estas foram expostas a uma solução aquosa de cloreto de 2,3,5- trifenil tetrazólio a 0,5%, pH 6,0 - 7,0 (ajuste com HCl ou NaOH concentrado), e mantidas em banho-maria a 45°C. Testes preliminares demonstraram que há um tempo ótimo de exposição na solução de tetrazólio para o desenvolvimento de cores nos tecidos vivos da semente. Visando identificar esse tempo, foram submetidas "meias sementes", previamente embebidas em água

(20 horas), àquela solução de tetrazólio, nos tempos de exposição de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 e 60 minutos. Também foi feita uma tentativa de substituir a água destilada por solução aquosa do fungicida merpacine* a 1,0%, para a embebição das sementes.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que sementes de 10 meses de colhidas, armazenadas em sacos de aniagem e colocadas em condições ambientais de laboratório apresentam um alto potencial de viabilidade. Na porção central da superfície cortada da "meia semente" houve o desenvolvimento de uma coloração vermelha intensa que cor responde ao embrião da semente, representada na Figura 2, pela par te escura.

Nas sementes de castanha-do-Brasil, o embrião apresen ta-se como um tecido aparentemente não diferenciado (v. Fig.1) su gerindo que, no decorrer da germinação, esse venha a sofrer modi ficações morfológicas, projetando-se para a região dos polos germi nativos onde há eclosão do caulículo e da radícula. É possível que esta condição amorfa e não diferenciada do embrião justifique, em parte, a tardia germinação dessas sementes.

Foi observado que o tempo de exposição das "meias semen tes" em solução de tetrazólio a 0,5% a 45°C, para a obtenção de um perfeito gradiente de cor entre as partes vivas e as outras, está entre 10 e 20 minutos. No entanto a prolongada exposição à solução de tetrazólio elimina totalmente o gradiente de cor.

A embebição das "meias sementes" em solução de merpaci ne a 1,0% mudou o padrão de cor observado anteriormente, desapare cendo o vermelho das regiões vivas da semente, prejudicando a dife renciação da área do embrião.

* 5,1% em "acetato de fenil mercúrio"

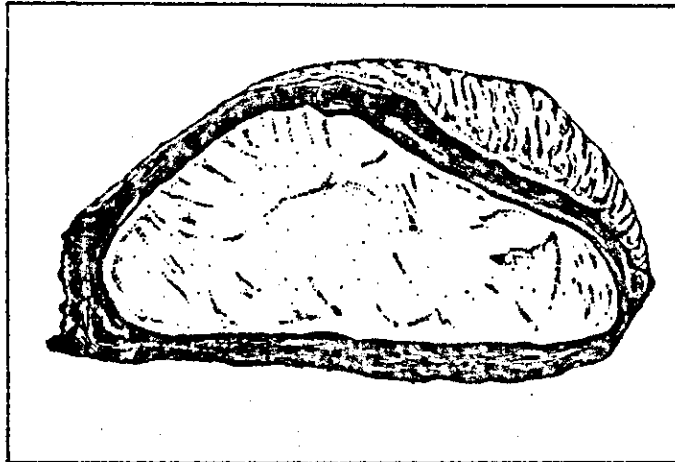
Esse efeito do fungicida pode ser explicado pela promoção de um efeito letal, quando em contato com as partes vivas da semente ou pela neutralização do poder redutor do sal de tetrazólio da solução. Baseando-se em dados não publicados de MULLER & FREIRE (v.6-20), onde foi observada destacada eficiência desse fungicida, em comparação com uma série de outros, na conservação de amêndoas desta espécie, durante a germinação em areia, é possível descartar a primeira hipótese. É provável, entretanto, que este fungicida contenha ingrediente(s) de alto poder oxidante, inativando o efeito do tetrazólio sobre a semente.

4 - CONCLUSÕES

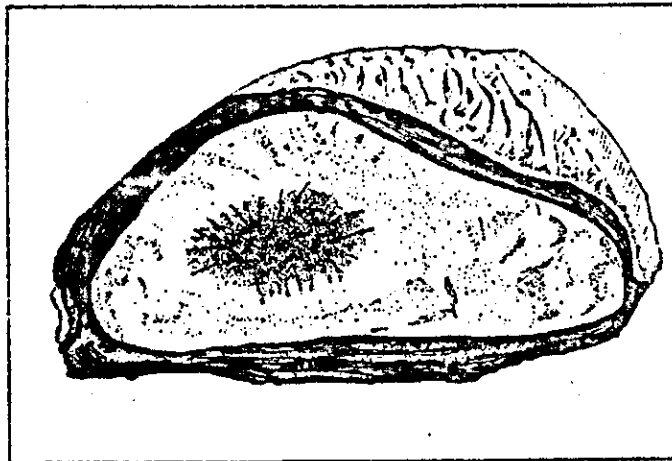
O embrião é aparentemente não diferenciado, sugerindo que, durante a germinação, ocorram profundas modificações morfológicas, justificando, em parte, a germinação demorada dessas sementes. O melhor tempo de exposição na solução de tetrazólio foi o intervalo de 10 a 20 minutos, permitindo perfeito contraste da coloração vermelha intensa dos tecidos do embrião da semente. A embebição das sementes em solução aquosa do fungicida merpacine a 1,0% prejudicou o desenvolvimento da coloração vermelha intensa na região do embrião da semente. Os resultados sugerem que, por ocasião da aplicação do teste de tetrazólio, o tratamento das sementes de castanha-do-Brasil com esse fungicida deve ser evitado. O teste de tetrazólio presta-se para a avaliação da viabilidade de sementes de castanha-do-Brasil e possibilita a localização e o acompanhamento do desenvolvimento do embrião durante a germinação, que o torna importante na explicação do mecanismo controlador da germinação das sementes.

REIS, G.G. dos; CARVALHO, J.E.U. de; MULLER, C.H; FIGUEIREDO, F.J.C. Calibração do teste de tetrazólio em sementes de castanha-do-Brasil. Belém, CPATU, 1979. 9 p. (Comunicado Técnico, 17).

ABSTRACT: Brazil nut (Bertholletia excelsa, H.B.K.) seeds of 10 month harvesting, stored in jute fiber bags were cutted longitudinally and submitted to different times of exposure in a 0.5% tetrazolium solution, after imbibition in distilled water (20 hours) or in a 1% aqueous solution of merpazine (5.1% in phenil mercuric acetate). The undifferentiated area of embryo showed perfect contrast of dark red color in the interval of 10 to 20 minutes in the solution of tetrazolium, after imbibition of distilled water. The imbibition of seeds in the aqueous solution of fungicide prejudiced the contrast of embryo area. The adequate use of tetrazolium is satisfactory to the evaluation of viability of Brazil nut seeds and enables the localization and accompanying of embryo development, during germination, which is important to explain the controlling mechanism of germination of the seeds.

5 - ANEXOS

5.1 - Fig. 1 - ASPECTO DE UMA "MEIA SEMENTE" APÓS O CORTE LONGITUDINAL



5.2 - Fig. 2 - "MEIA SEMENTE" MOSTRANDO A LOCALIZAÇÃO DO EMBRIÃO DA SEMENTE DE CASTANHA-DO-BRASIL

6 - FONTES CONSULTADAS

- 1 - BARBOSA, M.M.S.; LELIS, W.T. & PINTO, A.F.S. Ensaio sobre a germinação da castanha do Pará. B.Inst. Biol. Bahia. 13:100-6, 1974.
- 2 - CASTANHA do Pará: bem rentável só com a modernização. Amazônia. São Paulo, 3:10-5, 1978.
- 3 - INTERNATIONAL rules for seed testing. Proc. Int. Seed. Test. 31:1-152, 1972.
- 4 - KIM, M.C. The tetrazolium test for evaluating the viability of oil palm (Elaeis guianensis Jacq.) seed. Proc. Int. Seed Test. Assoc. 37(3):771-8, 1972.
- 5 - MOORE, R.P. Tetrazolium testing of seed peanuts. Oleagineaux. 27(8-9):433-8, 1972.
- 6 - ————. Tetrazolium testing practices and guides. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SEED PROCESSING. Raleigh, 1973, Raleigh, North Carolina State University, 1973. p.1-13.
- 7 - ————. Tetrazolium for diagnosing causes for disturbance in seed quality. Zeitschrift Lardiwirtschaftliche Forschung. 24:104-9, 1970.
- 8 - ————. Tetrazolium evaluation of tree and shrub seeds. Proc. Seed Test. Assoc. 37:1-7, 1972.
- 9 - ————. Tetrazolium for detection of physiological necroses in lettuce seed. Seed Technol. News. 40(3):16-7, 1969.
- 10 - ————. Tetrazolium insights into leaky embryos and bloated seeds. Seed Technol. News. 40(4):5-6, 1969.

- 11 - MOORE, R.P. Seed vigor or soundness and corn improvement. |Preparado para 18th. Annual Hybrid Industry - Research Conference. Chicago, 1963|.
- 12 - ———. Technique innovation TZ testing of small seeds. Seed Technol. News. 44(2):18-9, 1972.
- 13 - ———.Tetrazolium as a universally acceptable quality test of value seed. Proc. Int. Seed Test. Assoc. 27(3):795-805, 1972.
- 14 - ———. Seed germination difficulties determined by a TZ chemical method (2, 3, 5 - triphenil tetrazolium chloride). Raleigh, 1956.
- 15 - ———. Weather - fractured hypocotyls in great northern bean seed. News Letter of Assoc. of Off. Seed Anal. 35(3):7-8, 1965.
- 16 - ———. Weather - fractured seed coats beans. News Letter of Assoc. of Off. Seed Anal. 39(2):26-7, 1965.
- 17 - ———. The use of tetrazolium test as a rapid method of determining seed viability, vigor and causes for seed germination difficulties in corn. |Apresentado na Hybrid Seed Corn Industry Research Conference. Chicago, 1958|.
- 18 - ———. Tetrazolium tests for determination of injury and viability of seed corn. In: ANNUAL HYBRID CORN INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 13th, 1958. Proceedings. |S.L.| 1958. p. 13-20, 28-33.
- 19 - MORAES, V.H.F.M. & MULLER, C.H. Influência da casca e da injeção de ácido giberélico na absorção de água pelas sementes da castanheira (Bertholletia excelsa, H.B.K.). Belém, CPATU, 1978. 7p. (Comunicado Técnico, 2).

- 20 - MULLER, C.H. & FREIRE, F.C.O. Influência de fungicidas na conservação e na germinação de amêndoas de castanha do Brasil. (em preparação).
- 21 - PINHEIRO, E. & ALBUQUERQUE, M. Castanha do Pará. In: LIVRO ANUAL DA AGRICULTURA. Brasília, 1968. p.225-33.
- 22 - REIS, G.G. dos. Absorção de água pelas sementes de castanhas do Brasil. (No prelo)