

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

The seal of the Universidade Federal do Amazonas is a circular emblem. It features a central figure of a bird, possibly a toucan, with its wings spread. The bird is surrounded by a laurel wreath. Above the bird are three stars. The text "UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS" is written along the top inner edge of the circle, and "IN UNIVERSA SCIENTIA VERITAS" is written along the bottom inner edge.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.) PRODUZIDAS PELA
EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL

MÁRCIA GREEN

MANAUS
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

MÁRCIA GREEN

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.) PRODUZIDAS PELA
EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antenor Francisco de Figueiredo
Co-orientador: Dr. Wanderlei Antônio Alves de Lima

MANAUS
2012

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Green, Márcia

G795a Avaliação da qualidade de sementes de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) produzidas pela Embrapa Amazônia Ocidental / Márcia Green. - Manaus: UFAM, 2012.
79 f.; il. color.

Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) — Universidade Federal do Amazonas, 2012.

Orientador: Prof. Dr. Antenor Francisco de Figueiredo

Co-orientador: Dr. Wanderlei Antônio Alves de Lima

1. Germinação de sementes 2. Dendezeiro 3. Plantas oleaginosas
I. Figueiredo, Antenor Francisco de (Orient.) II. Lima, Wanderlei
Antônio Alves de (Co-orient.) III. Universidade Federal do
Amazonas IV. Título

CDU 581.142(043.2)

MÁRCIA GREEN

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.) PRODUZIDAS PELA
EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em 16 de julho de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Antenor Francisco de Figueiredo (Orientador), Titular
Universidade Federal do Amazonas

Dr. Wanderlei Antônio Alves de Lima (Co-orientador), Titular
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Dr. Raimundo Nonato Vieira da Cunha, Titular
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Dra. Regina Caetano Quisen, Titular
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Dr. Ronaldo Ribeiro Moraes, Titular
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

A Deus que me deu forças e iluminou meu caminho.

Ao meu companheiro Edmilson Rodrigues da Silva pela compreensão, apoio, encorajamento, amor e companheirismo em todos os momentos desta nova conquista.

A meu filho Francisco Green da Silva, presente de Deus, que deu um sentido especial à minha existência e que tem proporcionado grandes momentos de alegria, ao qual dedico toda minha vida.

Aos meus pais Nelson Antonio Green e Helena Marconato Green que sempre me apoiaram e fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e hoje compartilham esta importante conquista comigo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me iluminar, me guiar e por ter me dado saúde e forças nos momentos mais difíceis.

À Universidade Federal do Amazonas, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pela oportunidade de realização deste curso.

À Embrapa Amazônia Ocidental pelo apoio e pelas excelentes condições de trabalho que me foram proporcionadas, para realização das atividades de pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, pela minha formação na docência e na pesquisa.

Ao meu co-orientador Dr. Wanderlei Antônio Alves Lima, pela competência científica, disponibilidade, generosidade, paciência, orientação e pela amizade. Com você tive a oportunidade de enriquecer meu conhecimento, com suas argumentações científicas, críticas e sugestões na elaboração da tese.

Ao Dr. Antenor Francisco de Figueiredo agradeço por ter assumido a orientação, pelo apoio, amizade e valiosas discussões e sugestões.

Aos membros da banca: Dr. Raimundo Nonato Vieira da Cunha, Dra. Regina Caetano Quisen, Dr. Ronaldo Ribeiro Morais por terem aceitado a participar da avaliação deste trabalho e pelas valiosas sugestões e críticas que contribuíram para a melhoria desta tese.

Ao Dr. André Luiz Atroch pela orientação nas análises estatísticas.

Ao Dr. Paulo Cesar Teixeira pela amizade, pelos conselhos, pelas valiosas conversas, discussões e contribuições na realização deste trabalho e por sempre estar disposto a me ajudar em qualquer situação, meu muito obrigada de coração.

À Dra. Cleci Dezordi pela grande amizade, apoio e por me colocar o desafio de fazer a tese de doutoramento.

Ao Dr. Ricardo Lopes pelas análises estatísticas, revisões, discussões e sugestões.

Ao secretário do curso, Nascimento pela presteza nos trâmites regimentais inerentes à Pós-Graduação e pela solicitude, paciência e prontidão em sempre atender-nos mais diversos momentos.

Aos colegas de turma nas pessoas de Lucilene, Gilson, Cristóvão, Lucifrancy, Márcia Reis, Valdemir (*in memorian*) e Marcos pela alegre convivência, amizade, companheirismo, solidariedade, sugestões e incentivo.

À minha grande amiga Lucilene Paes, sempre tão dedicada e preocupada comigo e com a tese. Obrigada pela sua amizade sincera, incentivo, apoio e pela sua atenção zelosa comigo e com o término da tese.

Aos funcionários do Escritório da Amazônia Embrapa Produtos e Mercados Rosildo, Sumara, Mireu e Samuel pela amizade, solidariedade, incentivo e por toda ajuda prestada.

À equipe do Laboratório de Sementes de Dendê e Agroenergia, Nelson, Mathias, Nei, Kelso, Rogério pela amizade e apoio nos trabalhos.

Aos técnicos Raimundo Oliveira do Nascimento (Dindin) e Antonio Raimundo Soares da Silva (Pelé) pela amizade, disposição, colaboração e inestimável auxílio prestado na realização das atividades da tese.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram. Aos meus pais, Néelson Antônio Green e Helena Marconato Green, que me deram não somente a vida, mas principalmente a minha educação. Aos meus irmãos Néelson Green, Tânia Aparecida Green e Débora Green por sempre me apoiarem e torcerem por mim.

Ao meu companheiro Edmilson Rodrigues da Silva, pelo inestimável apoio, companheirismo e pela paciência e compreensão reveladas ao longo destes anos.

A meu filho Francisco Green da Silva que veio em um momento tão especial de minha vida, trazendo luz e sentido para minha existência.

Há muito mais a quem agradecer... A todos aqueles que, direta ou indiretamente me ajudaram para realização desta tese, quer com palavras, orações e pensamentos positivos, meus agradecimentos.

AGRADEÇO

RESUMO GERAL

Este trabalho abordou dois capítulos: 1) tratamento térmico (TT) e germinação de sementes de dendzeiro e 2) teste de tetrazólio (TZ) em embriões de sementes de dendzeiro. O primeiro capítulo teve como objetivo avaliar o efeito do tempo de TT na germinação de sementes de cultivares de dendzeiro produzidas pela Embrapa. O teor de água das sementes foi ajustado para $18\% \pm 0,5$, base seca, e estas permaneceram no termogerminador à temperatura de $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ e umidade relativa do ar em torno de 80%, pelos tempos de 40, 50, 60 e 80 dias. O delineamento foi em BC, fatorial 6×4 , com quatro repetições e parcelas de 500 sementes. Os resultados foram submetidos a análises de variância, teste de médias e regressão. Verificou-se efeito significativo de cultivares, tempo de TT e da interação entre cultivares x tempo de TT. O tempo mínimo de TT térmico para germinação máxima variou de 45 dias para cultivar BRS C2328 (69,95%) a 80 dias para cultivar BRS C2528 (84,28%). Para BRS C7201 não foi verificado efeito significativo do tempo de TT na germinação das sementes, estimada em 82,15%. É possível reduzir o tempo de TT e obter germinação máxima das sementes das cultivares avaliadas. No segundo capítulo foram instalados quatro experimentos visando padronizar o TZ para sementes de dendzeiro: 1- identificar classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes, avaliando-se temperaturas de embebição em água (30 e 40 °C) e em tetrazólio (30, 35 e 40 °C) e concentrações do sal (0,075, 0,1 e 0,5%); 2- avaliar formas de preparo das sementes (amêndoas e embriões) e substratos para embebição (papel germitest e copos plásticos); 3- avaliar diferentes combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água e em tetrazólio (30, 35 e 40 °C) e diferentes concentrações do sal (0,075, 0,1 e 0,5%) e 4- correlacionar viabilidade pelo TZ com germinação. Em todos os experimentos o tempo de embebição dos embriões em água foi de 16 horas e em tetrazólio de 4 horas. Os resultados mostraram que o TZ pode ser utilizado para avaliar o vigor e a viabilidade em sementes de dendzeiro, desde que os embriões sejam extraídos, acondicionados em papel germitest umedecido, às temperaturas de embebição de 30 ou 35 °C em água, e à 40 °C em tetrazólio e à concentração de 0,075%.

Palavras-chave: Palma de óleo, tratamento térmico, produção de sementes, viabilidade de sementes, tetrazólio.

ABSTRACT

This trial addresses two chapters: 1) heat-treatment (HT) and germination of oil palm seeds and 2) tetrazolium test (TZ) in embryos of oil palm seeds. The first chapter aimed to evaluate the best HT period for the seeds germination of six oil palm varieties produced by Embrapa. The water content of all seeds was adjusted to $18 \pm 0.5\%$, dry basis, and these remained in the heat-treatment at a temperature of 39 ± 1 °C and relative humidity around 80% for 40, 50, 60 and 80 days. The statistical design was complete randomized block in a 6 x 4 factorial design, with four replications of 500 seeds. The results were submitted to analysis of variance, mean separation test and regression. It was observed significant effect of cultivar, HT period and the interaction between genotype x HT period. The minimum HT period for maximum germination ranged from 45 days for BRS C2328 (69.95%) to 80 days for BRS C2528 (84.28%). For BRS C7201 was not observed significant effect of HT period for seed germination, estimated as 82.15%. It is possible to reduce the HT period to reach the maximum germination for seeds of the cultivars evaluated. In the second chapter four experiments were established in order to standardize the TZ for oil palm seeds: 1 - identify vigor and viability in embryos of seeds, to evaluating temperatures of imbibitions on water (30 and 40° C), tetrazolium (30, 35 and 40° C) and concentrations of salt (0.075, 0.1 and 0.5%); 2 - to evaluate methods of preparation of the seed (kernels and embryos) and substrates for imbibitions (germitest paper and plastic cups); 3 - evaluate different temperatures combinations of embryos imbibitions in water and tetrazolium (30, 35 and 40° C) and different concentrations of salt (0.075, 0.1 and 0.5%) and 4 - to correlate viability by TZ with germination. In all trials the time of embryos imbibition in water was 16 hours and 4 hours for tetrazolium. The results showed that the TZ can be used to evaluate the vigor and viability of oil palm seeds, provided that the embryos are removed, packed in moistened germitest paper, at 30 to 35° C as temperatures of imbibition in water, and 40° C for tetrazolium at a concentration of 0.075%.

Keywords: Oil palm, heat-treatment, viability of seeds, tetrazolium

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I - TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)..... 20

Figura 1. Diferentes tonalidades de coloração do endocarpo das sementes de dendezeiro durante o processo de germinação. 1: Marrom claro: saída do armazenamento e entrada no termogerminador. 2: Preto brilhante: após hidratação. 3: Preto opaco: após secagem superficial e na entrada da germinação. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012 27

Figura 2 - Valores estimados para germinação (%) de sementes de dendezeiro de diferentes cultivares em função do tempo de permanência no termogerminador. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 34

CAPÍTULO II - TESTE DE TETRAZÓLIO EM EMBRIÕES DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)..... 39

Figura 1 – Embrião de semente de dendezeiro. Secção longitudinal do embrião destacando as estruturas: eixo embrionário (ei), procâmbio (pc), protoderme (pt), meristema fundamental (mf) e a localização do tigelo e haustório. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 49

Figura 2 – Embriões de sementes de dendezeiro (Tamanho do embrião: cerca de três mm) . A*: Secção longitudinal do embrião destacando a localização do tigelo e haustório. A: Embriões ilustrando a Classe 1. B: Embriões ilustrando a Classe 2. C: Embriões ilustrando a Classe 3. D: Embriões ilustrando a Classe 4. E: Embriões ilustrando a Classe 5. F: Embriões ilustrando a Classe 6. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 56

Figura 3 – Uniformidade e intensidade de coloração dos embriões de sementes de dendezeiro submetidos a diferentes combinações de temperaturas de embebição em água e em tetrazólio e diferentes concentrações da solução de tetrazólio. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 57

Figura 4 – Uniformidade e intensidade de coloração de amêndoas (endosperma e embrião) e de embriões de sementes de dendezeiro submetidos a duas formas de preparo das sementes (amêndoas e embriões) e pré-condicionados em papel germitest úmido e em copos plásticos (nº 6), diretamente em água. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 58

Figura 5 – Níveis de viabilidade e vigor dos embriões de sementes de dendezeiro submetidos a diferentes combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água (A, B) e em tetrazólio (C). Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 61

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)..... 21

Tabela 1 – Grau de umidade (%) dos lotes de sementes das diferentes cultivares de dendezeiro, após o ajuste do grau de umidade e antes do tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 26

Tabela 2 – Grau de umidade das sementes, nas bases úmida e seca, das diferentes cultivares de dendezeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 30

Tabela 3 – Resumo da análise de variância da germinação de sementes de cultivares de dendezeiro em função do tempo de tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012. 31

Tabela 4 – Média da germinação (%) de sementes de cultivares de dendezeiro submetidas a diferentes tempos de tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 32

Tabela 5 – Valores estimados de intervalo de germinação máxima (\hat{Y} máx) e tempo de tratamento térmico correspondente [t (\hat{Y} máximo)] para sementes de cultivares de dendezeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012. 35

CAPÍTULO II - TESTE DE TETRAZÓLIO EM EMBRIÕES DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)..... 40

Tabela 1 - Quadrados médios da análise de variância para as variáveis viabilidade e vigor de embriões de sementes de dendezeiro em função das diferentes temperaturas de embebição em água e em tetrazólio e concentrações do sal de tetrazólio. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012. 60

Tabela 2 – Porcentagem média de viabilidade e vigor das sementes de dendezeiro pelos testes de tetrazólio e de germinação clássica. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 64

Tabela 3 – Coeficientes de correlação para as variáveis obtidas pelos testes de tetrazólio (TCT)¹ e de germinação clássica de sementes de dendezeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012. 64

APÊNDICE 69

CAPÍTULO I - TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)..... 70

Tabela 1 – Quadrados médios da análise de variância da regressão linear para a variável germinação das cultivares de dendezeiro em função de diferentes períodos de aquecimento. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012. 71

Tabela 2 - Quadrados médios da análise de variância da regressão linear para a variável germinação das diferentes cultivares de dendezeiro em função de diferentes períodos de aquecimento. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012..... 71

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| RESUMO GERAL | V |
| ABSTRACT | VI |
| LISTA DE FIGURAS | VII |
| LISTA DE TABELAS | VIII |
| INTRODUÇÃO GERAL | 12 |
| CAPÍTULO I - TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.) | 20 |
| RESUMO | 21 |
| ABSTRACT | 22 |
| INTRODUÇÃO..... | 23 |
| Germinação de sementes de dendezeiro..... | 23 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 25 |
| Locais onde foram desenvolvidas as atividades | 25 |
| Preparo das sementes..... | 25 |
| Tratamento térmico..... | 26 |
| Germinação das sementes..... | 27 |
| AVALIAÇÕES..... | 28 |
| Grau de umidade..... | 28 |
| Contagem das sementes germinadas (triagens)..... | 28 |
| Delineamento experimental e análise estatística | 28 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO II - TESTE DE TETRAZÓLIO EM EMBRIÕES DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.) | 39 |
| RESUMO | 40 |
| ABSTRACT | 41 |
| INTRODUÇÃO..... | 42 |
| MATERIAIS E MÉTODOS..... | 46 |
| Locais onde foram desenvolvidas as atividades | 46 |
| Preparo das sementes e testes preliminares | 46 |
| Experimento 1 – Identificação de classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes de dendezeiro | 47 |
| Experimento 2 – Preparo e pré-condicionamento (hidratação) das sementes de dendezeiro para o teste de tetrazólio..... | 49 |
| Experimento 3 – Padronização do teste de tetrazólio..... | 50 |
| Experimento 4 – Correlação da viabilidade pelo teste de tetrazólio com a germinação de sementes de dendezeiro | 51 |
| Aplicação do teste de tetrazólio..... | 51 |
| Aplicação do teste de germinação | 52 |
| Tratamento térmico..... | 52 |
| Germinação das sementes..... | 52 |
| Avaliações do teste de germinação - Grau de umidade..... | 53 |
| Contagem das sementes germinadas (Triagens)..... | 53 |
| Primeira contagem de germinação | 53 |
| Semente padrão comercial..... | 53 |
| Delineamento experimental e análise estatística | 54 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 54 |

| | |
|---|----|
| Experimento 1 – Identificação de classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes de dendezeiro | 54 |
| Experimento 2 – Preparo e pré-condicionamento (hidratação) das sementes de dendezeiro para o teste de tetrazólio..... | 57 |
| Experimento 3 – Padronização do teste de tetrazólio..... | 59 |
| Experimento 4 – Correlação da viabilidade pelo teste de tetrazólio com a germinação de sementes de dendezeiro | 63 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 66 |
| APÊNDICE | 69 |
| CAPÍTULO I - TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.) | 70 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - INTRODUÇÃO GERAL | 72 |
| CONCLUSÃO GERAL | 75 |

INTRODUÇÃO GERAL

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma palmeira de origem africana que pertence à família Arecaceae. É encontrada em estado selvagem, semi-selvagem e cultivada em três principais áreas do Trópico Equatorial: África, Sudeste Asiático e América Central e América do Sul (Corley e Tinker, 2003). Internacionalmente é conhecida como “oil palm” ou “palma aceitera”, e no Brasil, como dendê ou palma de óleo.

O dendezeiro é, considerada, dentre as oleaginosas cultivadas, a de maior produtividade, ocupando o primeiro lugar em produção de óleo. No ano de 2011/2012 atingiu uma produção de 56.120.000 toneladas, seguido da soja, com 42.060.000 toneladas. Os maiores produtores mundiais de óleo de palma são a Indonésia e a Malásia que, no ano de 2011/2012, produziram 25.400.000 e 18.300.000 toneladas, respectivamente (USDA, 2012). Segundo Venturieri (2011), no Brasil, o cultivo do dendezeiro se concentra no Pará, estado que em 2010 possuía 90% dos plantios do país. Segundo o autor, em 1985, a área de plantios com dendezeiro no Pará era de, aproximadamente, 28.160,341 hectares e, em 2011, foi estimada em cerca de 117.688.853 hectares, demonstrando a grande evolução da área plantada com dendezeiro nesse estado.

Entretanto, de acordo com Lima (2011), até o presente momento, o Brasil não produz quantidade suficiente de óleo de dendê para atender o mercado interno, necessitando importar quantidades significativas. Pelos dados estatísticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2010), a produção de óleo de palma no Brasil, em 2009, foi de 165 mil toneladas. Nesse mesmo ano foram exportadas 24,6 mil toneladas e importadas 128,3 mil toneladas. O consumo nacional foi de 268,7 mil toneladas, gerando um déficit de 103,7 mil toneladas entre a produção e o consumo.

Segundo Lima (2011), a dendeicultura nacional, impulsionada pelo aumento da demanda por óleos para diversos fins, passa pelo momento de expansão mais intenso, desde o início de sua exploração comercial. Essa expansão é reflexo, dentre outras, de ações e políticas governamentais, como a criação do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), em 2004 e, o Programa de Produção Sustentável de Palma de Óleo no Brasil, lançado em 2010. Segundo Venturieri (2011), por meio desses programas o governo criou condições técnicas, econômicas, sociais e ambientais para a expansão ordenada de plantios de dendezeiro no Brasil. Esse aumento na expansão da dendeicultura brasileira nos últimos 50 anos pode ser observado através dos dados estatísticos do MAPA (2010), onde, em

1961, a área plantada com dendê era de 2 mil hectares, com uma produção nacional de óleo de palma de aproximadamente de 4 mil toneladas. Porém, em 2009, existiam em torno de 165 mil hectares de plantios de dendezeiro que produziram cerca de 75 mil toneladas de óleo de palma.

Com a expansão, aumenta a demanda pela oferta de sementes e mudas geneticamente adequadas às condições brasileiras, como forma de garantir a continuidade do programa. A única empresa brasileira, até o momento, a fornecer sementes germinadas de dendezeiro para o mercado nacional é a Embrapa. A produção de sementes comerciais de dendezeiro foi iniciada em 1991, pela Embrapa Amazônia Ocidental no Campo Experimental do Rio Urubu, em Rio Preto da Eva, Amazonas. A comercialização de sementes germinadas de palma de óleo pela Embrapa, no período de 2000 a 2010 foi de 6,7 milhões de sementes. De acordo com valores estimados pelo Escritório da Amazônia Embrapa Produtos e Mercados, em 2010, a demanda por sementes germinadas de palma de óleo no mercado brasileiro foi de 10 milhões de unidades, enquanto que a produção de sementes no mesmo ano foi de 1.138.250 milhões. Dessa forma, a Embrapa atendeu aproximadamente 11% desta demanda por sementes.

Levando-se em consideração que as sementes são entidades biológicas complexas responsáveis por conduzir ao campo as características genéticas determinantes do desempenho da cultura, as condições de beneficiamento, armazenamento e os procedimentos aplicados para germinação devem assegurar a manutenção da viabilidade e do vigor das sementes de dendezeiro, principais parâmetros (características) utilizados para avaliar a qualidade fisiológica das sementes.

Segundo Popinigis (1985), entende-se por qualidade fisiológica da semente o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade. A qualidade fisiológica da semente significa sua capacidade para desenvolver funções vitais, abrangendo germinação, vigor e longevidade. De acordo com a definição da AOSA (Association of Official Seed Analysts, 1983), o vigor das sementes compreende as propriedades que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme e desenvolvimento de plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais; enquanto que, a viabilidade é medida principalmente pelo teste padrão de germinação, que determina a máxima germinação da semente, nas condições mais favoráveis possíveis. Segundo Popinigis (1985), o vigor representa atributos mais sutis da qualidade fisiológica, não revelados pelo teste de germinação e é determinado sob condições desfavoráveis, ou medindo-se o declínio de alguma função bioquímica ou fisiológica.

Os testes de vigor, de acordo com Marcos Filho (2005), consistem em avaliar ou detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes com germinação semelhante, complementando as informações fornecidas pelo teste de germinação; distinguir, com segurança, lotes de alto dos de baixo vigor e separar (ou classificar) lotes em diferentes níveis de vigor.

O vigor de uma semente pode ser afetado por vários fatores como: a) fatores genéticos, b) condições climáticas durante as diversas etapas do desenvolvimento das sementes (disponibilidade de água, temperaturas elevadas), c) danos mecânicos, d) microrganismos e insetos, e) manejo após a colheita: secagem, beneficiamento e embalagem da semente, f) condições ambientais durante o armazenamento, g) densidade e tamanho da semente, h) idade da semente, i) baixas temperaturas durante a embebição (Carvalho e Nakagawa, 2000; Marcos Filho, 2005).

De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), durante o armazenamento a qualidade fisiológica da semente, em especial o vigor, pode ser afetada pelas condições ambientais de temperatura e umidade. Segundo Ferreira e Borghetti (2004) o maior desafio no armazenamento de sementes é conseguir que estas, após certo período, ainda apresentem elevada qualidade fisiológica, visto que seu melhoramento não é possível mesmo sob condições ideais.

O comportamento das sementes de dendezeiro submetido ao armazenamento tem sido estudado por vários autores, sempre com intuito de relacionar os fatores que interferem na manutenção da viabilidade e vigor com o período de armazenamento. Rees (1962) concluiu que a secagem e a duração do armazenamento foram os fatores que mais contribuíram para a perda de viabilidade das sementes, afetando a germinação. O mesmo autor, em 1963, verificou o efeito de sementes armazenadas por 15 meses, com teores de água a 14%, 21% e 22% e temperaturas de 22 °C e 27 °C, na germinação das sementes e concluiu que quando o teor de água das sementes ficou abaixo de 14,5%, a viabilidade das sementes foi drasticamente reduzida. Três anos depois, Rees (1965) investigou o efeito da secagem e das condições de armazenamento na viabilidade e germinação de sementes de dendezeiro, onde concluiu que as melhores condições de armazenamento ocorreram quando as sementes foram armazenadas com teores de água entre 19 a 22%, às temperaturas de 22 e 27 °C, obtendo cerca de 90 a 98% de germinação em todos os períodos de armazenamento avaliados (um, três, seis, nove e doze meses). As piores condições de armazenamento foram observadas quando as sementes foram armazenadas com grau de umidade de 8,5 a 14,5% e à temperatura

de 34 °C, o que causou grande perda de viabilidade e baixa germinação das sementes de dendezeiro.

Mok (1982) verificou o efeito do teor de água das sementes, da temperatura de armazenamento, da duração do armazenamento e do período de aquecimento na germinação das sementes de dendezeiro, verificando que sementes armazenadas com 20% de umidade alcançaram porcentagens maiores de germinação quando comparado com sementes armazenadas a 10% e 15% de umidade.

Trabalho mais recente sobre o efeito do armazenamento e do aquecimento na germinação de sementes de dendezeiro (*E. guineensis* Jacq.) tipo dura foi conduzido por Beugré et al. (2009). Os autores utilizaram sementes com zero, três e seis meses de armazenamento e aquecidas por 40, 60 e 80 dias, a 39 ± 1 °C e verificaram que sementes aquecidas por 60 dias induziram uma porcentagem maior de germinação quando comparado com 80 dias de aquecimento e que sementes recém-colhidas germinaram mais do que sementes armazenadas por três e seis meses.

Segundo Pereira e Bianchetti (1977) e Marcos Filho (2005), assim como o vigor, a viabilidade das sementes também é influenciada por diversos fatores, desde antes da colheita até o momento da semeadura e, relacionar todos os fatores que afetam a viabilidade das sementes é bastante difícil, pois muitos deles são interligados. Dentre esses fatores podem ser citados: genéticos, condição inicial das sementes, condições climáticas na maturação, condições ambientais antes da colheita, momento de colheita das sementes, danos mecânicos causados pelo método de colheita, condições de armazenamento, danos mecânicos, entre outros.

A avaliação da qualidade fisiológica (viabilidade e vigor) das sementes deve ser efetuada com tal eficiência que permita identificar os lotes que apresentam maior probabilidade de se estabelecer adequadamente em campo. Dentre os métodos utilizados para avaliação da qualidade fisiológica destacam-se: teste de germinação e testes de vigor. Dentre os testes de vigor, destaca-se o teste de tetrazólio, primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG) (Marcos Filho, 2005).

Segundo Marcos Filho (2005), os testes de vigor têm se constituído em ferramentas de uso cada vez mais rotineiro pela indústria de sementes para a determinação da qualidade fisiológica (viabilidade e ou vigor). A avaliação da qualidade fisiológica de sementes através de métodos rápidos está relacionada a eventos da deterioração, como atividades respiratórias e a integridade do sistema de membranas celulares. O principal ou o mais popular desse grupo de testes é o teste de tetrazólio, que é um método rápido para estimar a viabilidade e o vigor

de sementes, com base na alteração da coloração de tecidos vivos, em presença de uma solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (TZ).

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas, as quais catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Estas enzimas, particularmente a desidrogenase do ácido málico, reduzem o sal de tetrazólio nos tecidos vivos (AOSA, 1983).

As enzimas desidrogenases estão envolvidas na atividade respiratória dos sistemas biológicos (Delouche et al., 1976). Durante os processos respiratórios, substâncias intermediárias são produzidas, que servem de substrato para as desidrogenases. Íons de hidrogênio são transferidos (em diversas etapas) para o tetrazólio, que atua como um receptor de hidrogênio. O tetrazólio é então reduzido a um “formazan” insolúvel e colorido (vermelho). A reação ocorre no interior da célula e como o pigmento não é difusível, há um delineamento bastante nítido entre o tecido que respira (viável) e o tecido que não respira (não viável). O primeiro adquire cor vermelha característica, enquanto o último mantém a sua cor natural. Segundo Delouche et al. (1976), a velocidade da reação de tetrazólio é afetada por diversos fatores, como: pH, temperatura, concentração da solução, entre outros.

Dessa forma, o objetivo principal do teste de tetrazólio, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 2009), é determinar a viabilidade das sementes, particularmente, daquelas que apresentam dormência, das espécies recalcitrantes e as que germinam lentamente em testes de rotina.

Os procedimentos para aplicação do teste de tetrazólio consistem no preparo das sementes, que corresponde à fase de pré-umedecimento (hidratação) para facilitar a absorção da solução de tetrazólio, sendo necessário para algumas espécies e altamente recomendado para outras (Brasil, 2009). De acordo com as RAS (Brasil, 2009), o pré-umedecimento possibilita uma coloração mais uniforme, permitindo uma avaliação mais fácil. Além disso, segundo Delouche et al. (1976), o pré-condicionamento não somente facilita o preparo das sementes (corte), mas proporciona uma coloração limpa e clara, melhora a qualidade do teste e torna a interpretação mais fácil.

O processo, o período mínimo de embebição e as temperaturas de pré-umedecimento, assim como a temperatura e o tempo de coloração na solução de tetrazólio encontram-se descritos por espécie nas RAS (Brasil, 2009). Para a maioria das espécies listadas nas RAS (Brasil, 2009), as concentrações da solução de tetrazólio mais recomendadas são de 0,5 a 1,0 %, de acordo com o preparo das sementes antes da coloração (pré-umedecimento). Dentre as espécies listadas nas RAS, o teste de tetrazólio foi descrito apenas para um gênero da família

Arecaceae (*Koelreuteria* spp.), não existindo, ainda, nenhuma abordagem para o gênero *Elaeis*.

De acordo com Delouche et al. (1976), a intensidade de coloração das sementes é afetada por muitos fatores. A intensidade, a profundidade e a rapidez de coloração de sementes que são coloridas através do tegumento, ou após a remoção do tegumento (mas não após o seccionamento), estão intimamente relacionadas com a qualidade das sementes. As sementes velhas, muito deterioradas ou mecanicamente danificadas, caracteristicamente, colorem-se rapidamente, intensamente e profundamente. As sementes vigorosas se colorem mais lentamente e desenvolvem uma cor vermelha brilhante que não penetra muito fundo. No entanto, outras sementes de baixo vigor se colorem vagarosamente e raramente adquirem uma intensidade de coloração mais escura do que um leve rosado, independentemente da extensão do período de coloração.

Os resultados do teste de tetrazólio podem ser utilizados para comparar o teste de germinação. França Neto et al. (1998), afirmaram que em condições normais, os resultados de viabilidade obtidos nos testes de germinação e tetrazólio devem ser semelhantes, permitindo diferenças de até 5% entre os mesmos. Discrepância superior a 5% entre a viabilidade verificada pelo teste do tetrazólio e o percentual de germinação pode ocorrer, sendo explicada pelas seguintes razões: a) diferenças de amostragem; b) técnicas impróprias no teste de germinação; c) técnicas impróprias no teste de tetrazólio; d) uso de lotes de sementes com vigor médio ou baixo; e) presença de sementes com elevados índices de danos mecânicos e f) sementes infectadas por fungos.

A metodologia para aplicação do teste de tetrazólio tem sido aprimorada para diversas culturas de interesse econômico, existindo manuais específicos para tais que contemplam a metodologia de execução do teste. Porém, para as sementes de dendezeiro, ainda não existe uma metodologia definida e padronizada. Na literatura, de maneira geral, a aplicação do teste de tetrazólio em palmeiras ainda está restrita a poucas espécies como pupunha (Ferreira e Sader, 1987), buriti (Spera et al., 2001), coquinho azedo (Fernandes et al., 2007), macaúba (Ribeiro et al., 2010) e, para as palmeiras, de maneira geral (Meerow e Broschat, 2004).

Para o dendezeiro, trabalhos com teste de tetrazólio foram realizados por Mok (1972), Vargas (1996), Murugesan et al. (2002), Villa et al. (2007), Fondom et al. (2010). Alguns trabalhos como os de Murugesan et al. (2002) e Villa et al. (2007), têm utilizado o teste de tetrazólio como ferramenta para auxiliar nos estudos de cultura de tecidos e de criopreservação, fornecendo informações sobre a viabilidade das sementes de dendezeiro. Geralmente, a viabilidade das sementes de dendezeiro é analisada pela classificação de

embriões, segundo metodologia descrita por Cunha et al. (2007), onde é realizada uma avaliação visual de anormalidades do embrião, que é retirado do endosperma após o período de embebição, sendo classificados como viáveis ou inviáveis de acordo com a aparência. Este método nem sempre tem se mostrado eficiente para sementes de dendezeiro, pois fornece apenas indicação de deterioração de sementes, e não permite avaliar os estádios e causas do comprometimento da viabilidade apresentado por estas sementes. Desta forma, faz-se necessário desenvolver ou adaptar testes eficientes e rápidos que validem a qualidade dessas sementes antes, durante e após o armazenamento, visando a produção e comercialização dessas sementes.

Marcos Filho (2005) considera o teste de germinação como eficiente sob pelo menos dois aspectos: fornece informações sobre o potencial de uma amostra para germinar sob condições ótimas de ambiente e, além disso, é considerado padronizado, com ampla possibilidade de repetição dos resultados, dentro de níveis razoáveis de tolerância, desde que sejam seguidas as instruções estabelecidas nas RAS. Salienta-se que ainda não existem tais instruções para sementes de dendezeiro.

Para Krzyzanowski et al. (1991) e França Neto et al. (1998), dentre as principais limitações do teste de germinação quanto à sua aplicabilidade na avaliação tradicional de sementes podem ser citadas: a) demora na execução do teste; b) demora na obtenção dos resultados; c) não permite precisão na identificação dos fatores que afetam a qualidade dos lotes de sementes e d) os resultados podem ser alterados pela ocorrência de danos de embebição ou pela presença de fungos, entre outros.

Segundo Rees (1965), as sementes de dendezeiro quando colhidas estão dormentes e, sob condições naturais, a germinação ocorre esporadicamente por vários anos. Hussey (1958) demonstrou que o embrião de dendezeiro em si não é dormente, pois quando tornam extraídos e colocados em meio de cultivo adequados estes começaram a alongar-se dentro de 24 horas. Embriões, mesmo em contato com o endosperma, também apresentaram alongamento, desde que o opérculo fosse extraído de forma que o embrião ficasse livre para alongar-se em alguma direção. Segundo Hussey (1958), em sementes de dendezeiro não se aplica a existência de um inibidor de germinação, sugerindo que a dormência em sementes de dendezeiro pode ser causada por uma restrição mecânica imposta pelo opérculo.

Trabalhos pioneiros sobre germinação de sementes de dendezeiro foram desenvolvidos por Hussey (1958) e Rees (1962), que observaram a necessidade de submeter as sementes de dendezeiro a tratamento térmico durante 80 dias, à temperatura de 39 a 40 °C,

antes do início da germinação, como requisito fundamental para interromper a dormência das sementes.

Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), a dormência é o fenômeno pelo qual sementes de uma determinada espécie, mesmo sendo viáveis e tendo todas as condições ambientais para tanto, deixam de germinar. Segundo o autor, o estado de dormência não se confunde com o de quiescência, que é um estado de repouso que, estando viável a semente, é facilmente superável com o fornecimento das condições ambientais necessárias.

De acordo com Ferreira e Borghetti (2004), a dormência é normalmente classificada de acordo com sua origem ou com os prováveis mecanismos envolvidos. Quanto à origem, são reconhecidos dois tipos de dormência: primária e secundária. Segundo os autores, a dormência primária instala-se durante a fase de desenvolvimento e/ou maturação e a dormência secundária instala-se em uma semente quiescente, após a dispersão, quando esta encontra um ambiente desfavorável ou estressante para a germinação, principalmente quanto aos fatores água, temperatura, luz e oxigênio.

CAPÍTULO I

TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)

TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)

RESUMO: A Embrapa é, atualmente, a única empresa brasileira que executa um Programa de Melhoramento Genético e que fornece sementes germinadas de dendezeiro para o mercado nacional. No processo atual de germinação, as sementes são acondicionadas em sacos de polietileno e permanecem no termogerminador por 80 dias, à $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, com grau de umidade de $18\% \pm 0,5$. Para auxiliar no atendimento da demanda nacional por sementes de dendezeiro, faz necessário adaptar a metodologia utilizada, com vistas à redução do período de quebra de dormência, sem comprometer a quantidade e qualidade das sementes germinadas. O trabalho avaliou o efeito do tempo de tratamento térmico (TT) na germinação de sementes de cultivares de dendezeiro produzidas pela Embrapa. O experimento foi realizado na Embrapa Amazônia Ocidental, utilizando sementes de seis cultivares de dendezeiro, distribuídas em dois grupos, de acordo com o período de permanência na câmara fria: sementes recém-colhidas armazenadas por um mês e sementes armazenadas por até cinco meses. O teor de água de todas as sementes foi ajustado para $18\% \pm 0,5$, base seca, e estas permaneceram no termogerminador à temperatura de $39 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar em torno de 80%, pelos tempos de 40, 50, 60 e 80 dias. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 6×4 , com quatro repetições de 500 sementes. Os resultados foram submetidos a análises de variância, teste de médias e regressão. Verificou-se efeito significativo de cultivares, tempo de TT e da interação entre cultivares x tempo de TT. O tempo mínimo de TT térmico para germinação máxima variou de 45 dias para cultivar BRS C2328 (69,95%) a 80 dias para cultivar BRS C2528 (84,28%). Para BRS C7201 não foi verificado efeito significativo do tempo de TT na germinação das sementes, estimada em 82,15%. É possível reduzir o tempo de TT e obter germinação máxima das sementes das cultivares avaliadas.

Palavras-chave: Palma de óleo, produção de sementes, tempo de aquecimento, cultivares.

HEAT-TREATMENT AND GERMINATION OF OIL PALM (*Elaeis guineensis* JACQ.) SEEDS

ABSTRACT: Embrapa is currently the only Brazilian company that runs a breeding program and provides germinated oil palm seeds for the national market. In the current germination process, the seeds are packed in polyethylene bags and remain in heat-treatment room for 80 days at 39 ± 1 °C, with humidity of $18 \pm 0.5\%$. To help the national demand for oil palm seeds, is necessary to adapt the methodology used, for the reduction the period of dormancy, without compromising the quantity and quality of seeds germinated. The objective of this study was to determine the best heat-treatment (HT) period for the seeds germination of six oil palm varieties produced by Embrapa. This trial was conducted in Embrapa Western Amazon, using seeds of six varieties of oil palm trees, divided into two groups according to period in cold chamber: fresh seeds stored for one month and seeds stored for up to five months. The water content of all the seeds was adjusted to $18 \pm 0.5\%$, dry basis, and these remained in the HT room at a temperature of 39 ± 1 ° C and relative humidity around 80% for 40, 50, 60 and 80 days. The statistical design was complete randomized blocks in factorial scheme 6 x 4, with four replications of 500 seeds. The results were submitted to analysis of variance, mean separation test and regression. The results have shown a significant effect of cultivar, HT period and the interaction between genotype x HT period. The minimum HT period for maximum germination ranged from 45 days for BRS C2328 (69.95%) to 80 days for BRS C2528 (84.28%). For BRS C7201 was not observed significant effect of HT period for seed germination, estimated as 82.15%. It is possible to reduce the HT period to reach the maximum germination for seeds of the cultivars evaluated.

Keywords: Oil Palm, seeds production, heating time, cultivars.

1. INTRODUÇÃO

1.1. - Germinação de sementes de dendezeiro

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma palmeira de origem africana e, dentre as oleaginosas cultivadas, é a de maior produtividade, ocupando, em nível mundial, o primeiro lugar em produção de óleo, passando de 49.190.000 toneladas nos anos 2007/2008 para 56.120.000 toneladas, em 2011/2012, seguida da soja, que nos anos 2011/2012 produziu 42.060.000 toneladas de óleo vegetal (USDA, 2012).

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) é atualmente a única empresa no Brasil com programa de melhoramento genético e produção de sementes comerciais de dendezeiro. Porém, a quantidade de sementes produzidas não atende nem a metade da demanda. Embora grande parte desse déficit esteja relacionada à quantidade de sementes produzidas no campo, parte é devido às perdas ocorridas no processo de germinação, que pode ser melhorada pelo aprimoramento da metodologia, considerando ainda as exigências de cada material genético produzido.

As sementes de dendezeiro apresentam baixas taxas de germinação, devido à dormência que apresentam após a maturação fisiológica. Em condições naturais, sem interrupção artificial dessa latência, a germinação das sementes pode demorar anos e, em geral, não é uniforme e com taxa muito baixa (Hussey, 1958). Segundo Pinto (1971), o processo de germinação de sementes de dendezeiro pode ser dividido em duas fases: inicial, dependente de temperatura e de fundamental importância para eliminar a dormência do embrião, e a final, de crescimento do embrião e dependente de umidade e oxigênio.

As primeiras informações sobre a utilização de temperatura para quebra de dormência para germinação de sementes de dendezeiro foram de Hussey (1958). O autor identificou que a temperatura ótima para quebra de dormência de sementes de dendezeiro tipo tenera situava-se entre 38 e 40 °C. O tratamento térmico foi também estudado por Rees (1962), que concluiu que para interromper a dormência das sementes é necessário submetê-las durante período de 70 a 80 dias à temperatura de 39,5 °C e teor de água acima de 17%. Este autor também definiu os teores de água das sementes de dendezeiro, com base no peso seco, para se obter germinação ótima: 21 a 22% para sementes de dendezeiro tipo dura e de 28 a 30% para sementes de dendezeiro tipo tenera.

O estudo realizado por Hussey (1958) indicou que a germinação em dendezeiro depende de uma concentração mínima de oxigênio nos tecidos embrionários e, que em

sementes com alta umidade, a água bloqueia os espaços intercelulares, dificultando a permeabilidade do endocarpo ao oxigênio, provocando dessa forma dormência pela resistência mecânica à absorção de oxigênio.

De acordo com Orozco-Segovia et al. (2003), dentro da família Arecaceae é comum a presença de sementes com embrião anatomicamente imaturo. Porém, de acordo com os estudos de Hussey (1958), embriões extraídos de sementes de dendezeiro recém-colhidas, ao serem colocados em placas de Petri com papel de filtro úmido, apresentaram alongamento após 24 horas, à temperatura de 25-30 °C. O autor concluiu que o embrião de dendezeiro não poderia ser considerado como dormente ou fisiologicamente imaturo, mas que a dormência poderia ser causada pela resistência mecânica do endocarpo, de consistência dura e densa, que estaria impedindo o alongamento do embrião.

Além dos trabalhos clássicos com germinação de sementes de dendezeiro (Hussey, 1958 e Rees, 1962), trabalhos mais recentes sobre os efeitos do tempo de armazenamento e da duração do tratamento térmico na germinação de sementes de dendezeiro foram conduzidos por Beugré et al. (2009) e por Fondom et al. (2010). Beugré et al. (2009) utilizaram sementes de duas linhagens de dendezeiro (LM 19954 e LM 19617) para estudo do efeito de genótipo, tempo de armazenamento e do tratamento térmico na germinação. Foram utilizadas sementes recém colhidas e sementes armazenadas por três e seis meses à temperatura de 21 °C ± 1 °C e umidade relativa de 60% antes do tratamento térmico. A quebra de dormência foi realizada por tratamento térmico de 40, 60 e 80 dias, à temperatura de 39 ± 1 °C. Após o tratamento térmico as sementes foram hidratadas durante cinco dias, acondicionadas em sacos de polietileno e colocadas pra germinarem à temperatura de 25 a 27 °C, por oito semanas. Os autores concluíram que a capacidade de germinação das sementes foi fortemente influenciada pelo genótipo, pela duração do armazenamento e duração do tempo de tratamento térmico.

Utilizando sementes de 10 diferentes genótipos armazenadas por três meses e com umidade ajustada para 18%, Fondom et al. (2010) estudaram os efeitos da duração do tratamento térmico sobre a germinação e crescimento de plântulas de dendezeiro. As sementes encontravam-se armazenadas há três meses e o grau de umidade foi ajustado para aproximadamente 18%. Essas sementes foram acondicionadas em sacos de polietileno e colocadas no termogerminador por 60, 80, 100 e 120 dias, à temperatura de 39 °C ± 1 °C. De acordo com os autores, a duração do tratamento térmico de 60 dias foi eficaz na quebra de dormência das sementes das 10 progênies estudadas.

Para a germinação de sementes de dendezeiro, a Embrapa Amazônia Ocidental utiliza a metodologia descrita por Corrado e Wuidart (1990), com a hidratação das sementes por sete

dias antes do tratamento térmico, com água renovada diariamente. Em seguida, as sementes são secadas à temperatura ambiente, até atingirem teor de água em torno de $18\% \pm 0,5$ e acondicionadas em sacos de polietileno, hermeticamente fechados. Posteriormente, as sementes são colocadas no termogerminador, à temperatura de $39 - 40$ °C, por 80 dias, e em seguida reidratadas, durante sete dias, até atingirem umidade entre 23 e 25%. As sementes são então acondicionadas em sacos de polietileno fechados e, colocadas na sala de germinação, à temperatura de 25 a 27 °C. Depois de sete dias de acondicionamento nos sacos, faz-se a primeira triagem (contagem) para separação das sementes germinadas (protusão do eixo hipocótilo-radícula ou estágio de “ponto branco”) das não germinadas. Seguem-se mais três triagens, semanalmente. O processo de germinação de sementes de dendezeiro utilizado é de, aproximadamente, 130 dias (quatro a cinco meses). O aprimoramento da metodologia pode aumentar a germinação das sementes e reduzir o tempo demandado, resultando em menor custo de produção.

Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do tempo de tratamento térmico na germinação de sementes de cultivares de dendezeiro produzidas pela Embrapa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Locais onde foram desenvolvidas as atividades

As atividades foram conduzidas na Embrapa Amazônia Ocidental, no Laboratório de Sementes de Dendê e Agroenergia, no Campo Experimental da sede, situado no km 29 da Rodovia AM 010, latitude $2^{\circ}53'23,44''$ S, longitude $59^{\circ}58'57,30''$ W, em Manaus e no Campo Experimental do Rio Urubu (CERU), localizado aproximadamente a 154 km ao Norte de Manaus, latitude $2^{\circ}27'08,44''$ S, longitude $59^{\circ}34'13,69''$ W, na rodovia ZF-07 do Distrito Agropecuário da Superintendência da Zona Franca de Manaus – SUFRAMA, no município de Rio Preto da Eva/Manaus/AM.

2.2. Preparo das sementes

Sementes de dendezeiro foram produzidas no CERU seguindo os procedimentos descritos por Cunha et al. (2007). Foram utilizadas sementes de cachos de seis cultivares de dendezeiro produzidas pela Embrapa Amazônia Ocidental: BRS C2001, BRS C2328, BRS C2501, BRS C2528, BRS C3701 e BRS C7201. Após a colheita, os frutos foram retirados manualmente do cacho e o mesocarpo extraído em despulpadora centrífuga elétrica, adaptada

para sementes de dendezeiro e à lavagem para eliminação dos resíduos. Posteriormente, as sementes foram secadas à sombra e eliminadas as sementes deformadas ou danificadas pelo beneficiamento. Em seguida, as sementes foram tratadas com fungicida de contato e sistêmico a 0,2% do produto Carboxin® (Carboxanilida) + Thiram® (dimetilditiocarbamato) 200 SC, durante 5 minutos. Logo após, foi realizado o ajuste de umidade das sementes de cada lote para $18 \pm 0,5\%$, na base seca e, na sequência, mantidos em câmara fria com temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa em torno de 60%, até a execução dos testes.

Na instalação do experimento, os lotes de sementes foram distribuídos em dois grupos, de acordo com o período de permanência na câmara fria: 1) sementes recém-colhidas armazenadas por um mês, representadas pelas cultivares: BRS C2501, BRS C2528 e BRS C3701 e 2) sementes armazenadas por até cinco meses, representadas pelas cultivares: BRS C2001, BRS C2328 e BRS C7201.

Na Tabela 1 encontram-se apresentados os graus de umidade das sementes nas bases úmida e seca das diferentes cultivares de dendezeiro. Posteriormente ao ajuste da umidade, os lotes de sementes foram homogeneizados e, na sequência, colocados no termogerminador para quebra da dormência.

Tabela 1 – Grau de umidade (%) dos lotes de sementes das diferentes cultivares de dendezeiro, após o ajuste do grau de umidade e antes do tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| Grau de umidade das sementes ajustado para $18 \pm 0,5\%$ * | | | | | | |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | BRS 2001 | BRS 2328 | BRS 2501 | BRS 2528 | BRS 3701 | BRS 7201 |
| Base úmida | 14,79 | 14,38 | 14,88 | 14,58 | 14,89 | 14,82 |
| Base seca | 18,02 | 18,57 | 18,25 | 18,15 | 18,31 | 18,27 |
| Grau de umidade das sementes após homogeneização e antes do tratamento térmico* | | | | | | |
| Base úmida | 15,28 | 15,32 | 15,58 | 15,73 | 15,53 | 15,25 |
| Base seca | 18,03 | 18,09 | 18,45 | 18,67 | 18,39 | 18,00 |

* Média de quatro repetições de sementes por cultivar.

2.3. Tratamento térmico

Os lotes de sementes de cada cultivar de dendezeiro, após homogeneização, foram divididos em quatro repetições de 500 sementes (unidade experimental) para o teste de germinação. As sementes foram acondicionadas em sacos de polietileno (65 cm x 50 cm, espessura de 0,2 mm) fechados, contendo volume de ar no mínimo igual ao volume de sementes, a fim de permitir a troca de gases entre as sementes e o ar da embalagem. O

tratamento térmico foi realizado em termogerminador à temperatura de $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de aproximadamente 80% pelos tempos de 40, 50, 60 e 80 dias.

As sementes foram inspecionadas quinzenalmente e, em caso de contaminação por fungos, os lotes afetados foram submetidos a tratamento com fungicida de contato e sistêmico a 0,2% do produto Carboxin® (Carboxanilida) + Thiram® (dimetilditiocarbamato) 200 SC, durante cinco minutos.

2.4. Germinação das sementes

Ao final de cada período de aquecimento, as sementes foram hidratadas durante sete dias, pela imersão dos sacos das sementes, previamente furados, em tanques de água, sendo esta substituída duas vezes ao dia. Para eliminação do excesso de umidade, procedeu-se após a hidratação à secagem das sementes a sombra, em telado de arame à temperatura ambiente, para retirada da umidade superficial das sementes (Figura 1), sendo que, do ponto de vista prático, a redução no teor de água das sementes de dendezeiro foi observada por meio da mudança da coloração do endocarpo, de preto brilhante para opaco (Nunes et al., 1998).

Em seguida, as sementes foram colocadas em sacos de polietileno (65 cm x 50 cm, espessura de 0,2 mm) fechados, contendo um volume de ar pelo menos igual ao volume ocupado pelas sementes. As sementes foram colocadas na sala de germinação, dispostas em prateleiras metálicas, à temperatura de $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ para germinação.



Figura 1. Diferentes tonalidades de coloração do endocarpo das sementes de dendezeiro durante o processo de germinação. 1: Marrom claro: saída do armazenamento e entrada no termogerminador. 2: Preto brilhante: após hidratação. 3: Preto opaco: após secagem superficial e na entrada da germinação. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

2.5. Avaliações

2.5.1. Grau de umidade

O grau de umidade das sementes foi determinado pelo método da estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3$ $^{\circ}\text{C}$, por 24 horas Brasil (2009). As sementes inteiras (endocarpo e semente) foram quebradas e colocadas em um recipiente, previamente tarado, e pesados (A1). Em seguida, foram secados em estufa e novamente pesados (A2). O teor de água, nas bases úmida e seca, foi calculado por meio das fórmulas (Corrado e Wuidart, 1990):

$$\text{Base úmida: } U\% = [(A1 - A2)/A1]*100$$

em que:

U% = teor de água

A1 = peso inicial da semente úmida, em gramas

A2 = peso final da semente seca (após 24 h na estufa), em gramas

$$\text{Base seca: } U\% = [(A1 - A2)/A2]*100$$

O grau de umidade das sementes foi determinado após cada período de tratamento térmico e após as hidratações, sendo utilizadas quatro repetições de 10 sementes para cada cultivar.

2.5.2. Contagem das sementes germinadas (triagens)

A contagem de sementes germinadas foi realizada quatro vezes, sendo que a primeira contagem realizada 15 dias após o acondicionamento das sementes na sala de germinação e as demais, semanalmente. Considerou-se como semente germinada a protusão do eixo hipocótilo-radícula ou estágio de “ponto branco” (Corrado e Wuidart, 1990). Durante as contagens, quando observada a presença de fungos no lote, foi feito o registro do número de sementes contaminadas e o descarte das mesmas, e o tratamento das sementes restantes com solução de hipoclorito de sódio a 1%. Para cálculo do percentual de germinação, as sementes descartadas por contaminação e não germinadas, foram consideradas todas como não germinadas.

2.6. Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi instalado no delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 6 x4 sendo seis cultivares de dendezeiro e quatro

tempos de tratamento térmico para quebra de dormência, totalizando 24 tratamentos e 96 parcelas experimentais. Em cada unidade experimental, foram usadas 500 sementes.

Inicialmente procedeu-se a análise de variância para verificar o efeito das variáveis e da interação entre elas. Uma vez verificado efeito significativo da interação das variáveis, foi realizada a decomposição da análise. As médias de germinação das cultivares dentro de cada tempo do tratamento térmico foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e, para análise do efeito do tempo do tratamento térmico na germinação das sementes de cada cultivar foi realizada análise de regressão. As análises estatísticas foram realizadas com o uso do software SAS (SAS, 2002). As equações de regressão foram escolhidas pelo melhor ajuste, por meio do programa Table Curve (Jandel Scientific, 1989).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para padronização dos lotes, foi utilizado o teor de água das sementes na base seca (Tabela 2), a exemplo de outros trabalhos com sementes de dendezeiro que também utilizaram esse teor. Dentre os trabalhos podem ser citados os de Rees (1962); Corrado e Wuidart (1990); Vargas (1996); Nunes et al. (1998) e Beugré et. al. (2009). Segundo Corrado e Wuidart (1990), a principal vantagem de utilizar o teor em água na base seca é que esse método permite calcular a quantidade de água que se deve acrescentar ou retirar de um lote de sementes para um determinado teor em água requerido.

As sementes entraram no termogerminador com grau de umidade de $18\% \pm 5$ e, pode-se observar na Tabela 2 que ao final de cada período de aquecimento das sementes que a umidade, na base seca, ficou entre 16,70% a 18,47%. Esta faixa de umidade está de acordo com o estabelecido por Corrado e Wuidart (1990), que recomendaram que ao longo do processo de aquecimento das sementes, a umidade mínima não seja inferior a 17%. Verificase, também na Tabela 2 que, o grau de umidade das sementes, na base seca, após hidratação e antes do início da germinação das sementes, ficou entre 21,20% a 24,39%. De acordo com Corrado e Wuidart (1990), o teor em água que assegura uma boa germinação das sementes de dendezeiro deve ser de $22\% \pm 5$. Durante a germinação, os lotes de sementes com teor de água maior que o intervalo de umidade recomendado por Corrado e Wuidart (1990), de 21,5 a 22,5%, que apresentaram água condensada dentro dos sacos de polietileno foram submetidos à secagem.

Tabela 2 – Grau de umidade das sementes, nas bases úmida e seca, das diferentes cultivares de dendezeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| | BRS 2001 | BRS 2328 | BRS 2501 | BRS 2528 | BRS 3701 | BRS 7201 |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Grau de umidade das sementes após cada período de tratamento térmico das sementes * | | | | | | |
| 40 dias | | | | | | |
| Base úmida | 14,47 | 15,26 | 15,46 | 15,59 | 15,25 | 14,97 |
| Base seca | 16,92 | 18,01 | 18,29 | 18,47 | 17,99 | 17,60 |
| 50 dias | | | | | | |
| Base úmida | 14,68 | 15,22 | 15,09 | 15,33 | 14,87 | 14,96 |
| Base seca | 17,21 | 17,96 | 17,78 | 18,11 | 17,47 | 17,60 |
| 60 dias | | | | | | |
| Base úmida | 14,45 | 15,18 | 14,82 | 15,25 | 14,30 | 14,92 |
| Base seca | 16,89 | 17,90 | 17,39 | 18,00 | 16,70 | 17,53 |
| 80 dias | | | | | | |
| Base úmida | 14,55 | 14,76 | 14,89 | 14,82 | 14,61 | 14,41 |
| Base seca | 17,02 | 17,32 | 17,50 | 17,39 | 17,11 | 16,83 |
| Grau de umidade das sementes após hidratação e antes do início da germinação* | | | | | | |
| 40 dias | | | | | | |
| Base úmida | 18,30 | 18,05 | 18,53 | 18,90 | 18,39 | 18,18 |
| Base seca | 22,41 | 22,12 | 22,75 | 23,31 | 22,54 | 22,22 |
| 50 dias | | | | | | |
| Base úmida | 18,17 | 19,58 | 18,52 | 18,88 | 18,37 | 17,82 |
| Base seca | 22,21 | 24,35 | 22,73 | 23,28 | 22,50 | 21,69 |
| 60 dias | | | | | | |
| Base úmida | 17,48 | 19,13 | 18,82 | 18,67 | 18,18 | 17,57 |
| Base seca | 21,20 | 23,67 | 23,19 | 22,97 | 22,22 | 21,32 |
| 80 dias | | | | | | |
| Base úmida | 17,81 | 19,61 | 19,12 | 19,23 | 18,68 | 17,51 |
| Base seca | 21,67 | 24,39 | 23,64 | 23,80 | 22,98 | 21,23 |

* Média de quatro repetições de sementes por cultivar.

Verificou-se efeito significativo das variáveis cultivares e tempo de tratamento térmico, bem como da interação cultivares x tempo de tratamento térmico (Tabela 3). Na análise da decomposição foi verificado efeito de tempo de tratamento térmico dentro das cultivares BRS C2001, BRS C2328, BRS C2501, BRS C2528 e BRS C3701, e efeito de cultivares dentro de todos os tempos de tratamento térmico. O coeficiente de variação (10,9%) indicou precisão experimental satisfatória, o que permitiu adequada discriminação das médias.

Tabela 3 – Resumo da análise de variância da germinação de sementes de cultivares de dendezeiro em função do tempo de tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| | FV | GL | QM | F |
|-----------------|---------------------|------|---------|--------------------|
| Blocos | | 3 | 443,47 | |
| Cultivares | | 5 | 2432,44 | 2,01 |
| Tempo do TT | | 3 | 1785,25 | 32,81 |
| Cult. x TempoTT | | 15 | 1211,40 | 22,26 |
| Cult./Tempo TT | | 20 | 1516,66 | 27,88 ** |
| | Cult./Tempo 40 | 5 | 767,82 | 14,11 ** |
| | Cult./Tempo 50 | 5 | 293,55 | 5,39 ** |
| | Cult./Tempo 60 | 5 | 471,58 | 8,67 ** |
| | Cult./Tempo 80 | 5 | 4533,68 | 83,33 ** |
| Tempo TT/Cult. | | 18 | 1307,04 | 24,02 ** |
| | Tempo TT/BRS C2001 | 3 | 1123,41 | 20,65 ** |
| | Tempo TT/BRS C2328 | 3 | 3984,27 | 73,23 ** |
| | Tempo TT/BRS C2501 | 3 | 910,36 | 16,73 ** |
| | Tempo TT/BRS C2528 | 3 | 363,45 | 6,68 ** |
| | Tempo TT/BRS C 3701 | 3 | 1388,55 | 25,52 ** |
| | Tempo TT/BRS C7201 | 3 | 72,20 | 1,33 ^{ns} |
| Resíduo | | 69 | 54,41 | |
| Média | | 67,6 | | |
| CV(%) | | 10,9 | | |

^{ns} – não significativo ($p \geq 0,05$); ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. Cult. – Cultivar. TT – Tratamento térmico.

Verificou-se diferença estatística entre as cultivares em todos os tempos de tratamento térmico avaliados (Tabela 4). As médias de germinação nos tempos de tratamento térmico foram de 60,9% em 40 dias, 73,0% em 50 dias, 76,8% em 60 dias e 59,5% em 80 dias. Com tempo de tratamento térmico de 40 dias, o percentual de germinação variou de 39,6% (BRS C3701) a 81,4% (BRS C7201), com 50 de 64% (BRS C3701) a 88,1% (BRS C7201), com 60 de 58% (BRS C2328) a 88,6% (BRS C2501) e com 80 de 2,6% (BRS C2328) a 86,9% (BRS C2501). Os percentuais médios de germinação das sementes das cultivares foram mais próximos com 50 dias de tratamento térmico (CV=11,7%) e mais distantes com 80 dias de tratamento térmico (CV=56,6%).

Tabela 4 – Média da germinação (%) de sementes de cultivares de dendezeiro submetidas a diferentes tempos de tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| Cultivar | 40 dias | | 50 dias | | 60 dias | | 80 dias | |
|---------------------|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|
| BRS C2001 | 60,1 | b c | 67,8 | b | 70,8 | b c | 33,9 | c |
| BRS C2328 | 68,6 | a b | 68,4 | b | 58,0 | c | 2,6 | d |
| BRS C2501 | 55,8 | b c | 76,1 | a b | 88,6 | a | 86,9 | a |
| BRS C2528 | 60,2 | b c | 73,6 | b | 79,9 | a b | 80,8 | a b |
| BRS C3701 | 39,6 | c | 64,0 | b | 82,3 | a b | 74,8 | b |
| BRS C7201 | 81,4 | a | 88,1 | a | 81,2 | a b | 78,0 | a b |
| Média | 60,9 | | 73,0 | | 76,8 | | 59,5 | |
| CV (%) ¹ | 22,7 | | 11,7 | | 14,1 | | 56,6 | |

Médias, dentro de cada coluna, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ¹ - CV(%) = (100*DP)/média das cultivares.

De acordo com a Tabela 4, no tratamento térmico de 40 dias a cultivar BRS C7201 apresentou o maior percentual de germinação sem diferença estatística com a média da BRS C2328. Com 50 dias a maior taxa de germinação também foi da cultivar BRS C7201, e esta não diferiu estatisticamente da cultivar BRS C2501. Com 60 dias de tratamento térmico a cultivar BRS C2501 apresentou a maior média de germinação das sementes, não diferindo significativamente das médias das cultivares BRS C7201, BRS C2528 e BRS C3701. No maior tempo de tratamento térmico, 80 dias, a cultivar BRS C2501 apresentou maior média de germinação, não diferindo estatisticamente das médias das cultivares BRS C2528 e BRS C7201. A variação na posição das cultivares quanto classificadas nos diferentes tempos de tratamento térmico ocorre em função da interação do genótipo com o tempo, e indica que o tempo adequado de tratamento térmico deve ser definido para cada genótipo ou grupo de genótipos.

Analisando a resposta de duas linhagens de dendezeiro tipo dura em resposta ao tempo de tratamento térmico Beugré et al. (2009) verificou que para ambas as linhagens o maior percentual de germinação foi obtido aos 60 dias. Esse resultado é coerente com a germinação média das cultivares analisadas no presente estudo, visto que com 60 dias de tratamento térmico, a média de germinação das cultivares, 76,8% (Tabela 4), foi superior aos demais tempos. No estudo do autor não foi verificada interação entre genótipo e tempo de tratamento térmico, visto que nos três tempos analisados a germinação da linhagem LM 19617 foi sempre estatisticamente superior a da LM 19954. Para a linhagem LM 19617 as porcentagens médias de germinação foram de $33,07 \pm 6,58$; $48,02 \pm 7,02$ e $38,82 \pm 7,18$ com tratamento térmico de 40, 60 e 80 dias, respectivamente, enquanto que, para a linhagem LM 19954, as

porcentagens médias de germinação foram de $44,65 \pm 4,26$; $64,04 \pm 4,43$ e $51,11 \pm 6,48$ com 40, 60 e 80 dias, respectivamente. Já, no presente estudo, houve interação significativa entre os tempos de tratamento e o efeito de cultivares, indicando resposta diferencial das cultivares dentro de cada tempo de tratamento térmico, como pode ser observado na Tabela 4. As interações significativas entre o material genético e o tempo de tratamento térmico podem ser explicadas pela variabilidade genética das cultivares utilizadas nesse estudo.

Os resultados encontrados por Fondom et al. (2010) também corroboram com os resultados desse presente estudo. Os autores analisando os efeitos da duração do tratamento térmico sobre a germinação de sementes de 10 progênies de dendezeiro verificaram que sementes com grau de umidade de 18%, quando colocadas no termogerminador por 60, 80, 100 e 120 dias, à temperatura de $39 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ germinaram melhor quando foram submetidas ao tratamento térmico de 60 dias. Embora os resultados demonstrem aparentemente a existência de interação genótipo x tempo de tratamento térmico, os autores não realizaram análise estatística dessa interação.

As análises de regressão do tempo de tratamento térmico para cada cultivar indicaram diferentes tempos requeridos para obter a germinação máxima das sementes e o modelo de regressão quadrático foi o que melhor explicou a germinação das sementes das cultivares em resposta ao tempo de tratamento térmico (Figura 2). Das seis cultivares, apenas para cultivar BRS C2528 o modelo linear foi o que melhor se ajustou aos resultados e, para cultivar BRS C7201, não houve diferença significativa entre o ajuste dos modelos testados.

Com os dados dos valores estimados para germinação de sementes de dendezeiro (Figura 2), foram gerados intervalos de permanência das sementes no termogerminador (Intervalo de tempo de tratamento térmico) e sua respectiva germinação correspondente (Intervalo de germinação, Tabela 5). Por exemplo: levando-se em consideração a cultivar BRS C2001, o máximo de germinação (71%) foi alcançado quando as sementes permaneceram por 54 dias no tratamento térmico.

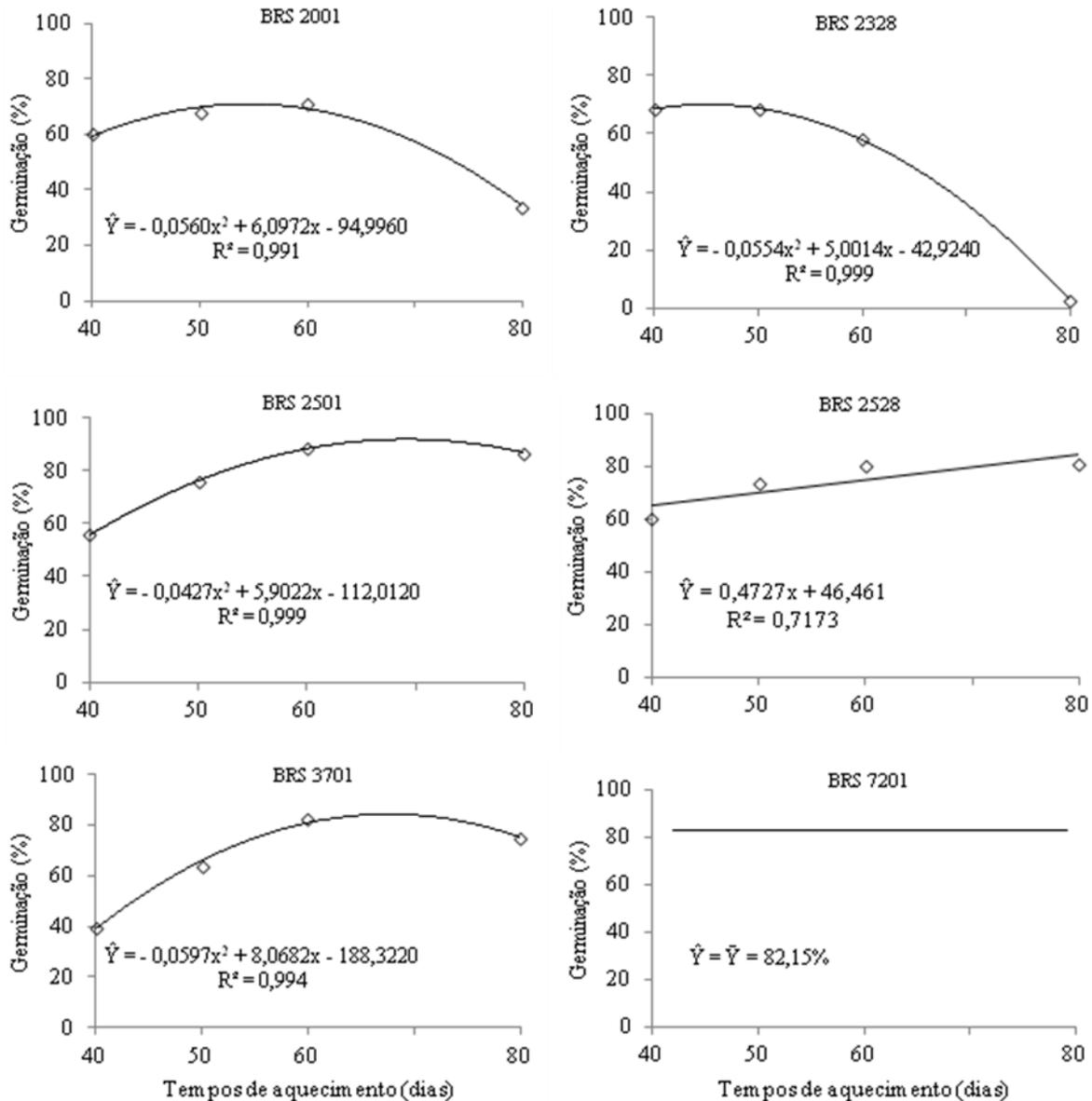


Figura 2 - Valores estimados para germinação (%) de sementes de dendezeiro de diferentes cultivares em função do tempo de permanência no termogerminador. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

Os valores percentuais de germinação máxima estimados pelas análises de regressão variaram de 70% (45 dias de tratamento térmico) para cultivar BRS C2328 a 92% (69 dias de tratamento térmico) para cultivar BRS C2501 (Figura 2, Tabela 5).

As diferenças indicaram que para a germinação máxima as sementes de cada cultivar devem ser submetidas a tempo de tratamento térmico específico. Esses resultados demonstraram que apenas com a alteração no tratamento térmico, adotando tempos específicos para cada cultivar, ao invés do período padronizado para todas as cultivares como

vem sendo adotado (Cunha et al., 2007), a taxa de germinação será maior e o custo de produção menor, considerando a redução do tempo de utilização do termogerminador, mantido a 40 °C com consumo de energia elétrica e a mão-de-obra utilizada para revisão periódica das sementes durante a permanência no termogerminador. Por exemplo, no caso da cultivar BRS C2328, o tempo de aquecimento para germinação máxima foi estimado em 45 dias, 35 a menos do indicado pelo método de Corrado e Wuidart (1990) que é seguido atualmente pela Embrapa (Cunha et al., 2007).

Tabela 5 – Valores estimados de intervalo de germinação máxima (\hat{Y} máx) e tempo de tratamento térmico correspondente [t (\hat{Y} máximo)] para sementes de cultivares de dendezeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| | Cultivares | t (\hat{Y} máximo) dias | \hat{Y} máx % |
|--|------------|---------------------------------|--------------------|
| <i>Sementes recém-colhidas com um mês de armazenamento</i> | BRS C2501 | 69* | 92* |
| | | 62 – 69 | 90 - 92 |
| | | 56 – 69 | 85 - 92 |
| | | 52 – 69 | 80 - 92 |
| | | 49 – 69 | 75 - 92 |
| | | 46 – 69 | 70 - 92 |
| | | 44 – 69 | 65 - 92 |
| | 42 – 69 | 60 - 92 | |
| | BRS C2528 | 80* | 84* |
| | BRS C3701 | 67* | 84* |
| 59 – 67 | | 80 - 84 | |
| 55 – 67 | | 75 - 84 | |
| 52 – 67 | | 70 - 84 | |
| 50 – 67 | | 65 - 84 | |
| 47 – 67 | 60 - 84 | | |
| <i>Sementes com até cinco meses de armazenamento</i> | BRS C2001 | 54* | 71* |
| | | 50 – 54 | 70 - 71 |
| | | 44 – 54 | 65 - 71 |
| | | 40 – 54 | 60 - 71 |
| | BRS C2328 | 45 | 70* |
| | | 36 – 45 | 65 - 70 |
| | | 32 – 45 | 60 - 70 |
| BRS C7201 | 40 – 80* | 82* | |

* Valores estimados correspondentes à germinação máxima e o intervalo de tempo de tratamento térmico correspondente obtidos para cada cultivar de acordo com Figura 2.

Levando-se em consideração a existência de dois lotes de sementes: recém-colhidas com um mês de permanência no armazenamento (cultivares BRS C2501, BRS C2528 e BRS C3701) e sementes com até cinco meses de permanência no armazenamento (cultivares BRS C2001, BRS C2328 e BRS C7201), verifica-se que as sementes armazenadas por mais tempo exigiram menor tempo de tratamento térmico para atingirem uma germinação máxima (Tabela 5).

Esses resultados corroboram com outros trabalhos como os de Mok (1982), que avaliou o efeito do tempo de tratamento térmico de 20, 40 e 60 dias, na germinação de sementes de dendezeiro, recém-colhidas (RC) e com 1, 2, 4, 8 e 12 meses de armazenamento (MA) e obteve taxa de germinação variando de 43,8 (RC) a 63,5% (2 MA) nas sementes com 20 dias de tratamento térmico, de 44,9 (12 MA) a 86,9% (1 MA) nas sementes com 40 dias e de 39,3 (12 MA) a 93,3% (1 MA) nas sementes com 60 dias. Resultados similares foram obtidos no presente estudo quando comparados os períodos de 40 dias de tratamento térmico, com variação de 39,6% a 81,4% na germinação, e com 60 dias, com germinação variando de 58% a 88,6%. Corley e Tinker (2003) também observaram que o período de tratamento térmico, para quebra de dormência das sementes, diminuiu à medida que aumentou o tempo de armazenamento, pois sementes armazenadas por mais de seis meses, requereram menor tempo de aquecimento do que sementes recém-colhidas (não armazenadas).

4. CONCLUSÕES

Para as cultivares de dendezeiro analisadas, sementes com grau de umidade de $18\% \pm 0,5$ podem ser acondicionadas no termogerminador por 60 dias, ao invés de 80 dias, sem comprometer o processo germinativo.

A germinação máxima das sementes de dendezeiro das cultivares analisadas foi influenciada pelo tempo de tratamento térmico, variando este de acordo com a cultivar.

Com exceção da cultivar BRS C2528, é possível reduzir o período de tratamento térmico utilizado para quebra de dormência das sementes das cultivares de dendezeiro produzidas pela Embrapa e obter a germinação máxima das sementes.

Para incremento na taxa de germinação, o período de permanência das sementes no termogerminador foi inversamente proporcional ao período de permanência no armazenamento, ou seja, sementes com até cinco meses de armazenamento (cultivares BRS C2001, BRS C2328 e BRS C7201) requerem período de permanência menor no

termogerminador em comparação às recém-colhidas (cultivares BRS C2501, BRS C2528 e BRS C3701).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beugré, M.M.; Kouakou, L.K.; Bognonké, P.J.; Konan, E.K.; Kouakou, H.T.; Kouadio, J.Y. Effect of storage and heat treatments on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*, 4:10, 931-937, 2009.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 395p. 2009.

Corley, R.H.V.; Tinker, P.B. *The Oil Palm*. Fourth edition, Blackwell Science, Oxford, 608 p. 2003.

Corrado, F.; Wuidart, W. Germination des graines de palmier à huile (*E. guineensis*) em sacs de polyéthylène. Méthode par “charleur sèche”. *Oléaginex*, 45, 11, 511-514, 1990.

Cunha, R.N.V.; Lopes, R.; Dantas, J.C.R.; Rocha, R.N.C. Procedimentos para produção de sementes comerciais de dendzeiro na Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus, Embrapa Amazônia Ocidental. *Série Documentos*, n.54, 34p., 2007.

Fondom, N. Y.; Etta, C.E.; Mih, A.M. Breaking Seed Dormancy: Revisiting Heat-treatment Duration on Germination and Subsequent Seedling Growth of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Progenies. *Journal of Agricultural, Science*, 2:2, 101-110, 2010.

Hussey, G. An analysis of the factors controlling the germination of seed of the oil palm, *Elaeis guineensis* (Jacq.). *Annals of Botany*, 22, 259-284, 1958.

Mok, C.K. Heat requirement for breaking dormancy of the oil palm seeds after storage under different conditions. In: Pushparajah, E.; Chew, P.S. (Eds.). *The Oil Palm in Agricultural Development in the Eighties*, The Incorporated Society of Planters, Kuala Lumpur, 197-206, 1982.

Nunes, C.D.M.; Lima, D.; Cunha, R.N. Germinação de sementes de dendê (*Elaeis guineensis*, Jacq.), utilizando o método de calor seco. Embrapa Amazônia Ocidental: *Instruções Técnicas*, n.12, p. 1-3, 1998.

Orozco-Segovia, A.; Batis, A.I.; Rojas-Aréchiga, M.; Mendoza, A. Seed biology of palms: a review. *Palms*, Miami, 47, 2:79-94, 2003.

Pinto, M.F. Germinação acelerada de sementes de palmeira. *Agronomia Angolana*, Luanda, 31:41-56, 1971.

Rees, A.R. High-temperature pre-treatment and germination of seed of oil palm, *Elaeis guineensis* (Jacq.). *Annals of Botany*, 26, 4:569-581, 1962.

SAS. *Institute Inc. SAS system for Microsoft windows*. Version 9. Cary, 2002.

Jandel Scientific. *Table Curve for windows*, version 1.10. 1989.

Vargas, P.F. Processo germinativo de la semilla de palma de aceite. *Primer Curso International de Palma de Aceite*. Memorias. Cenipalma: Colombia, p. 55-68, 1996.

USDA. United States Department of Agriculture. Economics, Statistics, and Market Information System. Disponível em:
<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>. Acesso em 20 de março de 2012.

CAPÍTULO II

TESTE DE TETRAZÓLIO EM EMBRIÕES DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)

TESTE DE TETRAZÓLIO EM EMBRIÕES DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)

RESUMO: O teste de tetrazólio (TZ) em sementes de dendezeiro pode ser uma ferramenta útil para diagnosticar a viabilidade e vigor das sementes. Não existe ainda, no Brasil, metodologia padronizada para aplicação do teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro. Para identificar os fatores que interferem na montagem, leitura e interpretação dos dados obtidos pelo teste de tetrazólio foram instalados quatro experimentos, interdependentes, objetivando: 1- identificar classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes de dendezeiro; 2- avaliar formas de preparo e substratos para hidratação das sementes; 3- avaliar diferentes combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água e em tetrazólio e diferentes concentrações do sal e 4- avaliar vigor e viabilidade das sementes por meio dos testes de tetrazólio e germinação. Foram utilizadas sementes recém-colhidas e beneficiadas. Para o teste de tetrazólio os embriões foram extraídos das amêndoas. No experimento 1 avaliaram-se temperaturas de embebição em água (30 e 40 °C), temperaturas de imersão em solução de tetrazólio (30, 35 e 40 °C) e concentrações do sal (0,075, 0,1 e 0,5%). No experimento 2 avaliaram-se substratos para hidratação (papel germitest e copos plásticos) e formas de preparo das sementes (amêndoas e embriões). No experimento 3 foram avaliadas temperaturas de embebição em água e em tetrazólio (30, 35 e 40 °C) e concentrações do sal (0,075, 0,1 e 0,5%). No experimento 4 os embriões foram embebidos em água (30 °C) e, em tetrazólio (40 °C), à 0,075%. Para todos os experimentos o tempo de embebição em água foi de 16 horas e em tetrazólio, de 4 horas. Foram avaliadas intensidade, homogeneidade e localização das partes coloridas nos embriões das sementes. No teste de germinação avaliou-se a porcentagem de germinação, primeira contagem e sementes normais. Os dados dos experimentos 1 e 2 foram analisados por análise descritiva, os do experimento 3 por análise de variância e regressão e os do experimento 4 por análise descritiva e correlação. Os resultados mostraram que para aplicação do teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro recomenda-se extrair os embriões, acondicioná-los em papel germitest, às temperaturas de 30 e 35 °C em água, e à 40 °C em tetrazólio, à concentração de 0,075%.

Palavras-chave: Palma de óleo, 2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio, vigor, viabilidade

TETRAZOLIUM TEST IN SEED EMBRYOS OF OIL PALM (*Elaeis guineensis* JACQ.)

ABSTRACT: The tetrazolium test (TZ) in oil palm seeds can be a useful tool for diagnosing the viability and vigor of the seeds. In Brazil there is not yet a standardized methodology for application the tetrazolium test in oil palm seeds. To identify factors that interfere with the installation, reading and interpretation of data obtained by the tetrazolium test, four experiments were established, interdependent, aiming: 1- to identify scales of vigor and viability in embryos of oil palm seeds; 2- to evaluate preparation methods and substrates for hydration of the seeds; 3- to evaluate different combination of temperatures from embryos imbibition in water, tetrazolium and different concentrations of salt and 4- to evaluate seed vigor and viability through the tetrazolium test and germination. Were used fresh and benefit seeds. For the tetrazolium test the embryos were extracted from the kernels. In experiment 1 were evaluated temperatures of imbibition in water (30 and 40° C) temperatures of immersion in tetrazolium solution (30, 35 and 40° C) and salt concentrations (0.075, 0.1 and 0.5%). In experiment 2 were evaluated substrates for hydration (germitest paper and plastic cups) and preparation methods of seed (kernels and embryos). In experiment 3 were evaluated temperatures of imbibition in water and tetrazolium (30, 35 and 40° C) and salt concentrations (0.075, 0.1 and 0.5%). In experiment 4 the embryos were imbibed in water (30° C) and in tetrazolium (40° C) at 0.075%. For all the trials the time of immersion was 16 hours in water and 4 hours in tetrazolium. Intensity, homogeneity and location of the colored portions of the embryos of seeds were evaluated. In the germination test were evaluated the percentage of germination, first count and normal seeds. Data from experiments 1 and 2 were analyzed by descriptive analysis, int the third experiment by analysis of variance and regression and in the experiment 4 by descriptive analysis and correlation. Results showed that for application of the tetrazolium test in oil palm seeds is recommended to extract the embryos, package them in germitest paper at temperatures of 30 and 35° C in water, and 40 ° C in tetrazolium, at a concentration of 0.075 %.

Keywords: Oil palm, 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride, vigor, viability

1- INTRODUÇÃO

O teste de germinação é o teste mais tradicional e o mais freqüente utilizado para avaliar a qualidade fisiológica das sementes (Krzyzanowski et al., 1991). De acordo com as Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 2009), o teste de germinação tem como objetivo determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, o qual pode ser usado para comparar a qualidade de diferentes lotes e também estimar o valor para semeadura em campo. Segundo Marcos Filho (2005), o teste de germinação é eficiente em, pelo menos, dois aspectos: fornece informações sobre o potencial de uma amostra para germinar sob condições ótimas de ambiente e, além disso, é considerado como padronizado, com ampla possibilidade de repetição dos resultados, dentro de níveis razoáveis de tolerância, desde que sejam seguidas as instruções estabelecidas em Regras para Análise de Sementes, tanto nacionais como internacionais.

Porém, de acordo com Krzyzanowski et al. (1991) e França Neto et al. (1998), o teste de germinação apresenta algumas limitações quanto à sua aplicabilidade na avaliação tradicional de sementes como a) demora na execução do teste; b) demora na obtenção dos resultados; c) não permite precisão na identificação dos fatores que afetam a qualidade dos lotes de sementes e d) os resultados podem ser alterados pela ocorrência de danos de embebição ou pela presença de fungos. De acordo com Marcos Filho (2005), a pesquisa na área de sementes tem atuado de maneira a desenvolver métodos eficientes que avaliem a viabilidade e vigor das sementes de forma mais rápida e segura como os testes de vigor, principalmente para espécies que apresentam longos períodos de germinação, como é o caso de sementes de dendê. O autor acrescenta ainda que o potencial fisiológico das sementes reúne informações sobre a germinação (viabilidade) e o vigor das sementes.

O vigor das sementes, segundo definição da AOSA (1983), compreende as propriedades (ou características) das sementes que determinam o potencial para uma emergência e desenvolvimento rápidos e uniformes de plântulas normais, sob ampla diversidade de condições do ambiente, enquanto que a viabilidade, de acordo com Popinigis (1985), é medida principalmente pelo teste padrão de germinação, que determina a máxima germinação da semente, nas condições mais favoráveis possíveis.

Dentre os testes utilizados para obtenção mais rápida de informações sobre o potencial fisiológico das sementes, o teste de tetrazólio é o mais completo e eficiente (Marcos Filho, 2005). França Neto et al.(1999) avaliando amostras de sementes de soja pelos teste de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em areia e teste de tetrazólio, verificaram

que após o teste de germinação, o teste de tetrazólio foi classificado como o mais preciso, superando os outros testes avaliados.

Segundo as RAS (Brasil, 2009), o teste de tetrazólio tem como objetivos determinar rapidamente a viabilidade de sementes, particularmente, daquelas que apresentam dormência, das espécies recalcitrantes e as que germinam lentamente em testes de rotina, assim como, a viabilidade das sementes em amostras ou individualmente, quando no final do teste de germinação ocorrer uma alta porcentagem de sementes não germinadas. Além dos objetivos citados acima, segundo França Neto et al. (1998), o teste de tetrazólio também permite o diagnóstico das possíveis causas responsáveis pela redução da qualidade fisiológica das sementes como danos mecânicos, danos ocasionados por secagem, insetos e deterioração por umidade, fatores estes importantes pois afetam a qualidade de um lote de sementes. Sendo assim, o teste de tetrazólio torna-se indicado para avaliar o vigor e a viabilidade das sementes de dendezeiro porque estas sementes além de apresentarem dormência, o processo de germinação é longo, cerca de três a quatro meses. Portanto, é importante utilizar um teste que avalie de forma rápida, segura e eficiente a qualidade das sementes de dendezeiro antes que todo o processo de germinação seja finalizado.

O teste de tetrazólio é conhecido desde a década de 30, quando Kuhn e Jerchel descobriram que os sais de tetrazólio reduzem-se no tecido vivo de formas incolores e solúveis para “formazans” coloridos e insolúveis, despertando o interesse de vários cientistas que se dedicaram a estudar o teste (Delouche et al., 1976). No Brasil, começou a ser mais difundido na década de 70, através do Programa de Apoio Governamental a Implantação do Plano Nacional de Sementes (AGIPLAN) com treinamentos e lançamentos de publicações (Delouche e Potts, 1974; Grabe, 1976).

Segundo Mok (1972), Moore (1973) e AOSA (1983), o teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases, as quais catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Estas enzimas, particularmente a desidrogenase do ácido málico, reduzem o sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio ou tetrazólio (TZ) nos tecidos vivos. Quando a semente é imersa na solução incolor de TZ, esta é difundida através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução que resulta na formação de um composto vermelho, estável e não difusível, conhecido como trifênilformazan. Quando o TZ é reduzido, formando o trifênilformazan, indica que há atividade respiratória nas mitocôndrias, significando que há viabilidade celular e do tecido. Portanto, a coloração resultante da reação é uma indicação positiva da viabilidade através da detecção da respiração em nível celular. Tecidos não viáveis não reagem e conseqüentemente não são coloridos

(França Neto et al., 1999). Sendo o tecido vigoroso, haverá a formação de um vermelho carmim claro; se o tecido está em deterioração, um vermelho mais intenso será formado, em virtude da maior intensidade de difusão da solução de TZ pelas membranas celulares comprometidas de tais tecidos. A observação de tais diferenças de cor e o conhecimento de diversas características das sementes permite a determinação da presença, da localização e da natureza dos distúrbios que podem ocorrer nos tecidos embrionários (Moore, 1973). Portanto, segundo Vieira e Pinho (1999), o padrão de coloração dos tecidos pelo TZ pode ser utilizado para identificar sementes viáveis, não viáveis e, dentro da categoria das viáveis, as de alto e baixo vigor.

A eficiência do teste de tetrazólio em avaliar a viabilidade e o vigor das sementes depende do desenvolvimento do método adaptado para cada espécie, de modo a definir as condições apropriadas para a hidratação, o preparo, concentração da solução de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação adequada da coloração das sementes (Oliveira et al., 2005; Pinto et al., 2008). Segundo Delouche et al. (1976), o pré-condicionamento auxilia no desenvolvimento de uma coloração mais uniforme, facilitando a interpretação; tem como função hidratar os tecidos e ativar o metabolismo das sementes e isto ocorre mais rapidamente em temperaturas mais elevadas.

Outro fator importante na aplicação do teste de tetrazólio é o período de tempo necessário para o desenvolvimento de coloração nas sementes. Delouche et al. (1976) verificaram que sementes de uma mesma espécie ou até de um mesmo lote podem apresentar velocidade de coloração diferente. Geralmente, sementes velhas e deterioradas colorem mais rapidamente e desenvolvem coloração vermelho carmim. Um período muito longo de contato das sementes com a solução pode acarretar o desenvolvimento de coloração muito intensa, prejudicando a interpretação do teste.

O preparo das sementes antes da coloração constitui outro fator importante na condução do teste. O pré-condicionamento das sementes (umedecimento) e corte são necessários para algumas sementes e recomendados para outras (Brasil, 2009). No caso de sementes de dendezeiro, Mok (1972) recomendou que, antes da extração dos embriões, as amêndoas fossem embebidas em água durante a noite. Decorrido este tempo, as amêndoas eram dissecadas longitudinalmente para expor o embrião e colocadas para hidratar por um período de sete horas, à temperatura de 28 °C, antes de serem colocadas na solução de tetrazólio.

Na literatura, de maneira geral, a aplicação do teste de tetrazólio em palmeiras ainda está restrita a poucas espécies como pupunha (Ferreira e Sader, 1987), buriti (Spera et al.,

2001), coquinho azedo (Fernandes et al., 2007), macaúba (Ribeiro et al., 2010) e, para as palmeiras, de uma maneira geral (Meerow e Broschat, 2004). Para o dendezeiro, trabalhos com teste de tetrazólio foram realizados por Mok (1972), Vargas (1996), Murugesan et al. (2002), Villa et al. (2007), Fondom et al. (2010). Para a maioria das espécies listadas pelas RAS (Brasil, 2009), as concentrações da solução de tetrazólio mais recomendadas são de 0,5 a 1,0 %, de acordo com o preparo das sementes antes da coloração (pré-umedecimento). Nesta listagem das RAS, o teste de tetrazólio foi descrito apenas para um gênero de palmeira (*Koelreuteria* spp.), que consiste em cortar a semente seca na base da haste e embeber em água por 18 horas, à temperatura de 20 °C. Em seguida, remover o pericarpo e embeber por cerca de três horas. Após remoção do tegumento, colocar na solução de tetrazólio a 1%, por 18 horas, à temperatura de 30 °C.

Para germinação de sementes de dendezeiro, a Embrapa utiliza a metodologia descrita por Corrado e Wuidart (1990). O processo utilizado por esta metodologia é longo, aproximadamente 130 dias (quatro a cinco meses). Neste caso, seria interessante e necessário a aplicação de um teste, como o teste de tetrazólio, que avaliasse o vigor e a viabilidade das sementes de dendezeiro antes da aplicação do teste de germinação. Dessa forma, teria-se uma idéia das condições em que as sementes se encontram, obtendo-se o número de sementes viáveis e, com isto, ganhando-se tempo, redução de custos e confiabilidade na entrega de pedidos de sementes de dendezeiro. Outra importante aplicabilidade do teste de tetrazólio tem sido em auxiliar outros estudos, como os de cultura de tecidos e os de criopreservação, fornecendo informações sobre o estado fisiológico dos embriões (viabilidade), antes da instalação do experimento. Nesse sentido podem ser citados os trabalhos de Murugesan et al. (2002), que compararam a viabilidade das sementes de dendezeiro obtida no teste de tetrazólio, com os do teste padrão de germinação e com os da cultura *in vitro*. Villa et al. (2007) empregaram o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade, dos embriões de sementes de dendezeiro, de forma rápida, visando estabelecer um protocolo de criopreservação para sementes de dendezeiro.

Para análise do vigor e viabilidade das sementes de dendezeiro antes da germinação, a Embrapa utiliza o teste de análise de embrião, descrito por Cunha et al. (2007), que consiste em avaliar duas repetições de 25 sementes onde os embriões são retirados das sementes e colocados em placas de Petri sobre papel filtro umedecido à temperatura ambiente para hidratar. Após duas horas é feita análise visual de possíveis anormalidades presentes nos embriões, classificando-os em viáveis e inviáveis. Este método nem sempre tem se mostrado eficiente para sementes de dendezeiro, pois fornece apenas indicação visual de anormalidade

das sementes, principalmente pela embebição ou não, não permitindo avaliar os estádios e causas do comprometimento da viabilidade apresentado por estas sementes.

Por outro lado, o teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro pode ser uma ferramenta útil não só para diagnosticar a viabilidade e vigor das sementes antes, durante e após o armazenamento, como na identificação de fatores que afetam o desempenho das sementes e possíveis causas. Para sementes de dendezeiro não existe ainda, no Brasil, metodologia padronizada para aplicação do teste de tetrazólio. Os resultados do teste de germinação de sementes de dendezeiro não permitem, por si, detectar o curso e as possíveis causas da deterioração das sementes que possam ocorrer, indicando apenas somente o estágio final depois que todo o processo de quebra de dormência (80 dias) foi estabelecido. Desta forma, faz-se necessário o desenvolvimento e a realização de testes de vigor e viabilidade mais apurados como ferramenta de rotina, na produção de sementes germinadas de dendezeiro da Embrapa.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi adaptar metodologia para avaliação de vigor e viabilidade por meio do teste de tetrazólio em embriões de sementes comerciais de dendezeiro da Embrapa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Locais onde foram desenvolvidas as atividades

As atividades foram conduzidas no Laboratório de Sementes de Dendê e Agroenergia, no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, situado no km 29 da Rodovia AM 010, latitude 2°53'23.44" S, longitude 59°58'57.30" W, em Manaus e no Campo Experimental do Rio Urubu (CERU), localizado aproximadamente a 154 km ao Norte de Manaus, latitude 2°27'08,44" S, longitude 59°34'13,69" W, na rodovia ZF-07 do Distrito Agropecuário da Superintendência da Zona Franca de Manaus – SUFRAMA, no município de Rio Preto da Eva/Manaus/AM.

2.2. Preparo das sementes e testes preliminares

Para auxiliar na identificação dos principais fatores que interferem na montagem, leitura e interpretação dos dados obtidos pelo teste de tetrazólio foram instalados quatro

experimentos, interdependentes, objetivando: a) Experimento 1 - identificar classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes de dendezeiro para padronização do teste de tetrazólio; b) Experimento 2 - avaliar formas de preparo e substratos para a hidratação das sementes para aplicação do teste de tetrazólio; c) Experimento 3 - avaliar diferentes combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água e em solução de tetrazólio e diferentes concentrações do sal de tetrazólio para padronização do teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro; d) Experimento 4 – correlacionar viabilidade pelo teste de tetrazólio com a germinação de sementes de dendezeiro.

Em todos os experimentos foram utilizadas sementes de dendezeiro, produzidas no CERU, seguindo os procedimentos descritos por Cunha et al. (2007). Todos os experimentos foram realizados na Embrapa Amazônia Ocidental, utilizando-se sementes de matrizes comerciais recém-colhidas, provenientes de frutos de cachos colhidos em estádio uniforme de maturação. Desta forma supõe-se que são sementes viáveis e de alto vigor. Após a colheita, os frutos foram submetidos à extração do mesocarpo, em despulpadora centrífuga elétrica, adaptada para sementes de dendezeiro e à lavagem para eliminação dos resíduos. As sementes foram secadas à sombra, eliminando-se as sementes deformadas e danificadas pelo beneficiamento. Para todos os experimentos, antes da instalação dos mesmos, foram determinados os graus de umidade das sementes, para caracterização inicial dos lotes de sementes.

2.3. Experimento 1 – Identificação de classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes de dendezeiro

Este experimento consistiu em descrever padrões de coloração e classes de vigor e viabilidade para embriões de sementes de dendezeiro com vistas à padronização do teste de tetrazólio para essas sementes.

Para realização deste experimento foi utilizada metodologia proposta por Mok (1972). O procedimento utilizado para obtenção dos embriões consistiu em quebrar o endocarpo, retirar a amêndoa (endosperma e embrião), e com o auxílio de um canivete, fazer a extração dos embriões do endosperma. Quando existiam amêndoas múltiplas, apenas uma foi selecionada para o teste. Após a remoção dos embriões, estes foram acondicionados em papel germitest umedecido para hidratação. A quantidade de água adicionada ao papel germitest foi calculada pela razão volume de água (mL) por peso do substrato (g), de acordo com as

instruções descritas nas RAS (Brasil, 2009). Em seguida foram colocados em câmara BOD, às temperaturas de 30 °C e 40° C, por 16 horas (por uma noite), para o pré-condicionamento (hidratação).

Salienta-se que em outros estudos preliminares, não descritos neste documento, foram instalados ensaios onde se pode concluir que os melhores períodos de hidratação dos embriões de sementes de dendezeiro foram 16 e 4 horas em água e tetrazólio, respectivamente (Green et al., 2011). Também, segundo as RAS (Brasil, 2009), o pré-condicionamento (hidratação) das sementes descrito para a maioria das espécies é de 16 a 18 horas. De acordo com Grabe (1976), o método de pré-condicionamento durante a noite geralmente é mais compatível com a rotina de laboratório. Em seguida foram retirados do papel germitest e colocados em copos plásticos descartáveis (nº 6), imersos em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, nas concentrações de 0,075%, 0,1% e 0,5%, cobertos com papel alumínio e colocados em câmara BOD, no escuro, às temperaturas de 30, 35 e 40 °C, por 4 horas.

Em todas as soluções de tetrazólio, utilizadas nos experimentos, foram preparadas com solução tampão para obter uma solução de tetrazólio com pH dentro da faixa de 6,5 a 7,5, de acordo com método descrito pelas RAS (Brasil, 2009). As concentrações foram escolhidas por serem as mais corriqueiramente utilizadas em sementes de diversas espécies e, além disso, facilita o preparo das soluções. Também, as concentrações utilizadas nos experimentos, estão dentro do intervalo recomendado pelas RAS (Brasil, 2009), para sementes de diferentes espécies, que vai de 0,05% a 1,0%. Logo após os embriões foram lavados em água corrente para retirar toda a solução de tetrazólio, acondicionados em copos plásticos descartáveis (nº 6) com água e avaliados em lupa estereoscópica, para descrição das classes de sementes conforme a intensidade, homogeneidade e localização das partes coloridas nos embriões. Também foi avaliada a porcentagem de coloração dos embriões, levando-se em consideração a uniformidade e intensidade.

Na avaliação individual dos embriões foi considerada a intensidade, homogeneidade e a ocorrência da coloração nas estruturas do embrião: tigelo e haustório, ilustrado na Figura 1 e, a turgescência dos tecidos do embrião, que foram assim descritos:

a) Coloração dos tecidos – embriões com coloração intensa e homogênea (vermelha ou rosa), com tecidos túrgidos e brilhantes foram considerados viáveis e vigorosos; embriões de coloração vermelha muito forte ou sem coloração, com tecidos com perda de turgescência e sem brilho foram considerados inviáveis.

b) Localização da coloração – a presença de danos (áreas não-coloridas ou de vermelho muito forte) no tigeló foi avaliada cuidadosamente, associada à sua extensão e à intensidade de coloração.



Figura 1 – Embrião de semente de dendezeiro. Secção longitudinal do embrião destacando as estruturas: eixo embrionário (ei), procâmbio (pc), protoderme (pt), meristema fundamental (mf) e a localização do tigeló e haustório. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

Na análise estatística dos dados foram analisadas combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água (30 e 40 °C), temperaturas de embebição dos embriões em tetrazólio (30, 35 e 40 °C) e concentrações do sal de tetrazólio (0,075%, 0,1% e 0,5%), sendo analisados 50 embriões em cada combinação. A análise foi feita visualmente e registradas as porcentagens médias de coloração dos embriões, com base na uniformidade e intensidade de coloração de cada embrião.

2.4. Experimento 2 – Preparo e pré-condicionamento (hidratação) das sementes de dendezeiro para o teste de tetrazólio

Este experimento consistiu em identificar a melhor forma de acondicionamento das sementes, levando em consideração o tipo de substrato e a parte constituinte da semente a ser utilizada para o teste, uma vez que, para sementes de dendezeiro ainda não existe, no Brasil, uma metodologia padronizada de preparo das sementes. Foram avaliadas duas formas de preparo das sementes para hidratação: amêndoas (endosperma e embrião) e embriões extraídos das sementes e, dois tipos de substratos para hidratação: copos plásticos descartáveis (nº 6) com as sementes submersas em água e papel germitest úmido. Para realização deste

experimento foi utilizada metodologia proposta por Mok (1972), com modificações. Para extração dos embriões utilizou-se a metodologia descrita no experimento 1. O procedimento utilizado para obtenção das amêndoas (endosperma e embrião) consistiu em quebrar o endocarpo (casca), retirar a amêndoa. Após a remoção das amêndoas e dos embriões, estes foram acondicionados nos substratos copos plásticos descartáveis (nº 6), diretamente em água e em papel germitest umedecido em água. Em seguida foram colocados em câmara BOD, à temperatura de 30 °C, por 16 horas, para o pré-condicionamento (hidratação). Os embriões foram retirados das amêndoas e juntamente com os outros embriões foram colocados em copos plásticos descartáveis (nº 6), imersos em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (TZ), na concentração de 0,1%, cobertos com papel alumínio e colocados em câmara BOD, no escuro, à temperatura de 40 °C, por 4 horas. Logo após foram lavados em água corrente para retirar toda a solução de tetrazólio, acondicionados em copos plásticos descartáveis (nº 6) com água e avaliados em lupa estereoscópica.

Na análise estatística dos dados foram avaliados dois tipos de substratos (papel germitest e copos plásticos) e duas formas de preparo das sementes (amêndoas e embriões), sendo analisados 100 embriões para cada variável testada. A análise foi feita visualmente e registradas as porcentagens médias de coloração dos embriões, com base na descrição de padrões de coloração e classes de vigor e viabilidade para embriões de dendezeiro descritos no experimento 1.

2.5. Experimento 3 – Padronização do teste de tetrazólio

Este experimento consistiu em avaliar diferentes combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água e em solução de tetrazólio e diferentes concentrações do sal visando certificar qual é a melhor combinação de temperatura de embebição dos embriões em água, em tetrazólio e concentração do sal para o teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro.

Para realização deste experimento foi utilizada metodologia proposta por Mok (1972), com modificações. Para extração dos embriões utilizou-se a metodologia descrita no experimento 1. Após a extração, os embriões foram acondicionados em papel germitest umedecido e colocados em câmara BOD, às temperaturas de 30 °C, 35 °C e 40 °C, por 16 horas. Em seguida foram retirados do papel germitest e colocados em copos plásticos descartáveis (nº 6), imersos em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, nas

concentrações de 0,075%, 0,1%, 0,5% e, cobertos com papel alumínio e colocados em câmara BOD, no escuro, às temperaturas de 30, 35 e 40 °C, por 4 horas. Foi acrescentado mais um nível de temperatura, intermediária entre 30 e 40 °C, utilizadas no experimento 1. Em seguida foram lavados em água corrente para retirar toda a solução de tetrazólio, acondicionados no substrato copos plásticos descartáveis (nº 6) com água e avaliados em lupa estereoscópica. Foi avaliada a porcentagem de sementes viáveis e vigorosas, com base na descrição de padrões de coloração e classes de vigor e viabilidade para embriões de sementes de dendezeiro conforme descritos no experimento 1, ou seja, sementes viáveis e vigorosas correspondem as Classes de 1 a 4; sementes apenas viáveis e não vigorosas correspondem a Classe 5 e a Classe 6 corresponde às sementes que não são viáveis.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3 x 3 x 3 (temperatura de embebição dos embriões em água x temperatura de embebição dos embriões em solução de tetrazólio x concentração do sal de tetrazólio), no total de 27 tratamentos, com duas repetições de 25 sementes para cada tratamento, totalizando 1.350 sementes. Os dados médios obtidos de viabilidade e vigor foram submetidos à análise de variância e o efeito das combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água e em tetrazólio e as diferentes concentrações da solução de tetrazólio no vigor e viabilidade dos embriões de sementes de dendezeiro foram analisados por meio de análise de regressão. As análises de variância e regressão foram processadas com o uso do software SAS (SAS, 2002).

2.6. Experimento 4 – Correlação da viabilidade pelo teste de tetrazólio com a germinação de sementes de dendezeiro

Após a colheita e beneficiamento das sementes, foi utilizado um lote de sementes de dendezeiro, onde parte das sementes foi submetida ao teste de tetrazólio e a outra parte à germinação.

2.6.1. Aplicação do teste de tetrazólio

Para o teste de tetrazólio utilizou-se a metodologia baseada nos resultados obtidos nos experimentos citados anteriormente. Para extração dos embriões seguiu-se a metodologia descrita no experimento 1. Após extração, os embriões foram colocados em câmara BOD, à temperatura de 30 °C, por 16 horas, para o pré-condicionamento (hidratação). Em seguida

foram colocados em copos plásticos descartáveis (nº 6), imersos em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, nas concentrações de 0,075%, cobertos com papel alumínio e colocados em câmara BOD, no escuro, à temperatura de 40 °C, por 4 horas. Logo após os embriões foram lavados em água corrente para retirar toda a solução de tetrazólio, acondicionados em copos plásticos descartáveis (nº 6) com água e avaliados em lupa estereoscópica.

2.6.2. Aplicação do teste de germinação

2.6.2.1 – Tratamento térmico

O restante das sementes foi submetido a tratamento com fungicida de contato e sistêmico a 0,2% do produto Carboxin® (Carboxanilida) + Thiram® (dimetilditiocarbamato) 200 SC, durante 5 minutos, para evitar o aparecimento de fungos durante o tratamento térmico das sementes e durante a germinação. Após o tratamento fúngico e secagem superficial das sementes, foi determinada a umidade das sementes (Brasil, 2009), utilizando-se duas repetições de 10 sementes quebradas. Em seguida as sementes foram separadas em quatro repetições de 400 sementes para o teste de germinação, onde foram acondicionadas em sacos de polietileno (65 cm x 50 cm, espessura de 0,2 mm) vedados, contendo um volume de ar no mínimo igual ao volume de sementes, a fim de permitir a troca de gases entre as sementes e o ar da embalagem. Os lotes de sementes foram colocados no termogerminador à temperatura de 39 °C ± 1 °C, com umidade relativa do ar de aproximadamente 80%, por 60 dias. A partir da primeira semana após o início do tratamento térmico, as sementes foram inspecionadas, quinzenalmente.

2.6.2.2. Germinação das sementes

Ao final do período de 60 dias de tratamento térmico, as sementes foram retiradas do termogerminador e determinado o grau de umidade das sementes (Brasil, 2009). Em seguida, as sementes foram imersas em água renovada duas vezes ao dia, durante sete dias e, logo após submetidas à secagem a sombra, em telado de arame à temperatura ambiente, para retirada da umidade superficial. As sementes foram colocadas em sacos de polietileno (65 cm x 50 cm, espessura de 0,2 mm) vedados, contendo um volume de ar pelo menos igual ao volume

ocupado pelas sementes, novamente determinada o grau de umidade das sementes (Brasil, 2009). As sementes foram colocadas na sala de germinação, dispostas em prateleiras metálicas, à temperatura de 27 °C a 30 °C para o início da germinação. Considerou-se como semente germinada a protusão do eixo hipocótilo-radícula ou estágio de “ponto branco” na germinação.

2.6.2.3. Avaliações do teste de germinação - Grau de umidade

Para todos os experimentos, o grau de umidade das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105 °C \pm 3 °C, por 24 horas (Brasil, 2009). Foram utilizadas duas repetições de 10 sementes quebradas para determinar o teor de água das sementes. Quando a diferença entre as duas repetições foi maior que 1.1% repetiu-se a operação.

2.6.2.4. Contagem das sementes germinadas (Triagens)

Foram efetuadas quatro triagens semanais, sendo que a primeira triagem foi realizada aos 15 dias após o acondicionamento das sementes na sala de germinação e as demais, semanalmente. Durante as triagens semanais, quando observada a presença de fungos, as sementes contaminadas foram contadas e eliminadas e, o restante das sementes foram pulverizadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, para controle. Na última triagem foi contado o número de sementes não germinadas e descartadas.

2.6.2.5. Primeira contagem de germinação

Foi considerada como primeira contagem de germinação, a primeira triagem (contagem das sementes germinadas), avaliando-se o número de sementes germinadas.

2.6.2.6. Sementes padrão comercial

No final das triagens, as sementes germinadas foram separadas em sementes normais (sementes padrão comercial) e anormais. Foram consideradas como sementes germinadas normais aquelas que apresentaram desenvolvimento normal do eixo hipocótilo-radícula, ou

seja, prontas para comercialização. Foi determinada a porcentagem de sementes padrão comercial.

2.6.3. Delineamento experimental e análise estatística

Pelo teste de germinação foi contabilizado o número de sementes germinadas (germinação clássica), o número de sementes que germinaram na primeira contagem e o número de sementes padrão comercial. Foram consideradas como viáveis as sementes germinadas, obtidas nas quatro triagens e, como vigor, a primeira contagem e sementes padrão comercial.

Pelo teste de tetrazólio foi avaliada a viabilidade dos embriões com base na descrição de padrões de coloração e classes de vigor e viabilidade para embriões de sementes de dendezeiro conforme descritos no experimento 1.

Os valores médios de viabilidade obtidos no teste de tetrazólio e os de germinação, primeira contagem e semente padrão comercial, obtidos no teste de germinação, foram correlacionados por meio do coeficiente de correlação de Pearson, com significância de 1 e 5%, de probabilidade pelo teste t, utilizando-se o programa Genes (Cruz, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Experimento 1 – Identificação de classes de vigor e viabilidade em embriões de sementes de dendezeiro

Foram descritas seis classes de vigor e viabilidade baseando-se na intensidade, uniformidade e localização dos padrões de coloração correlacionando-se com as partes constituintes do embrião (tigelo e haustório, Figura 2 A*):

Classe 1 – Sementes de mais alto vigor. Os tecidos do embrião estão túrgidos e brilhantes, apresentando coloração homogênea (vermelha ou rósea) tanto no tigelo como no haustório. Tigelo com coloração vermelha e haustório com coloração rósea ou vice-versa. Embrião todo colorido (Figura 2 A).

Classe 2 – Sementes de alto vigor. Os tecidos do embrião apresentam coloração homogênea no tigelo, porém no haustório ocorre falta de coloração inferior a 25% em relação ao haustório (Figura 2 B).

Classe 3 – Sementes de vigor médio. Os tecidos do embrião apresentam coloração homogênea no tigelo e no haustório ocorre falta de coloração entre 25% e 50% em relação ao haustório, desde que abaixo da região mediana (Figura 2 C).

Classe 4 – Sementes de vigor baixo. Tigelo e haustório com falta de coloração entre 25% e 50% em relação ao embrião, desde que não atinge a região do eixo embrionário, respectivamente (Figura 2 D).

Classe 5 – Sementes viáveis e não vigorosas. Sementes que apresentam poucas condições em se desenvolver-se em uma planta normal. Nesta Classe estão as sementes onde o embrião pode apresentar: tigelo com falta de coloração maior que 25%, com haustório colorido; tigelo colorido e haustório sem coloração e tigelo e haustório sem coloração maior que 50% em relação ao embrião (Figura 2 E).

Classe 6 – Sementes inviáveis. Embrião apresentando tigelo totalmente sem coloração e haustório colorido ou apresentando as estruturas do embrião (tigelo e haustório) sem coloração, com tecidos flácidos ou vermelho carmim forte (tecido em deterioração) (Figura 2 F).

De maneira geral observou-se que as Classes de 1 a 4 corresponderam às sementes viáveis e vigorosas; a Classe 5 correspondeu às sementes apenas viáveis e não vigorosas e a Classe 6 correspondeu às sementes que não são viáveis.

Na Figura 3 observou-se a intensidade e uniformidade (coloração) dos embriões em função das temperaturas de embebição em água e em solução de tetrazólio para cada concentração utilizada. Dessa forma, verificou-se que em todas as concentrações, onde os embriões foram embebidos em água por 40 °C, a porcentagem de coloração (uniformidade e intensidade) foi inferior a 60%. Embriões embebidos à temperatura de 30 °C, tanto em água como em tetrazólio, obtiveram coloração menor que 50% em todas as concentrações. A uniformidade e intensidade de coloração dos embriões embebidos em água a 30 °C e a 35 °C em tetrazólio foi de 90% para todas as concentrações, exceto para coloração de embebição a 30 °C em água e 40 °C em tetrazólio, na concentração de 0,075%, que foi de 60%.

Levando-se em consideração que foram utilizadas sementes recém-colhidas (viáveis e vigorosas), esperava-se que a melhor ou as melhores combinações (temperatura e concentração) fossem aquelas que apresentassem maior uniformidade e intensidade de coloração dos embriões.

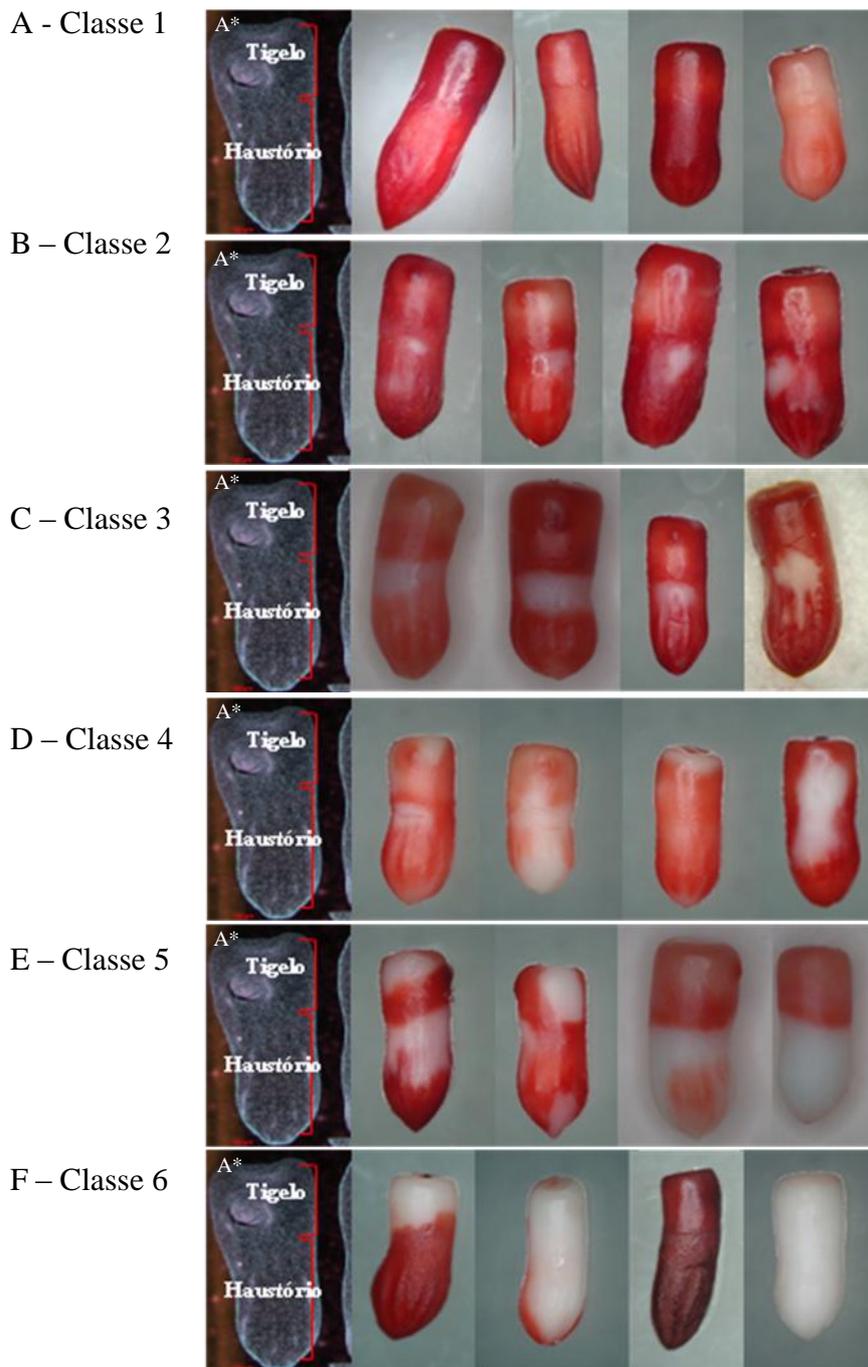


Figura 2 – Embriões de sementes de dendezeiro (Tamanho do embrião: aproximadamente três a 4 mm) . A*: Secção longitudinal do embrião destacando a localização do tigelo e haustório. A: Embriões ilustrando a Classe 1. B: Embriões ilustrando a Classe 2. C: Embriões ilustrando a Classe 3. D: Embriões ilustrando a Classe 4. E: Embriões ilustrando a Classe 5. F: Embriões ilustrando a Classe 6. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

Dessa forma, pode-se concluir que a melhor combinação de temperatura de embebição e concentração do sal em relação à uniformidade e intensidade de coloração foi obtida quando os embriões foram embebidos em água por 30 °C, embebidos em solução de tetrazólio a 35 ou 40 °C. Para embriões de sementes de dendezeiro não aconselha as combinações: 30 – 30 °C; 40 – 30 °C; 40 – 35 °C e 40 – 40 °C, em água e em tetrazólio, respectivamente.

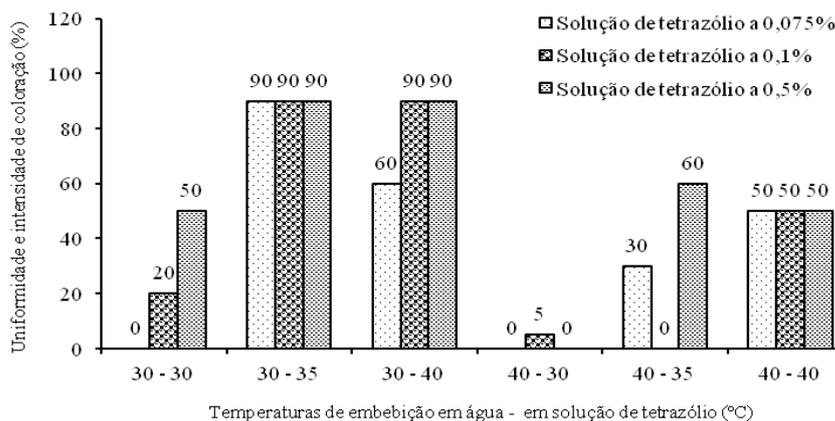


Figura 3 – Uniformidade e intensidade de coloração dos embriões de sementes de dendezeiro submetidos a diferentes combinações de temperaturas de embebição em água e em tetrazólio e diferentes concentrações da solução de tetrazólio. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

3.2. Experimento 2 – Preparo e pré-condicionamento (hidratação) das sementes de dendezeiro para o teste de tetrazólio

Verificou-se na Figura 4 que a utilização de embriões extraídos e embebidos diretamente em água, em copos plásticos e no papel germitest umedecido permitiram melhor intensidade e homogeneidade de coloração do que as amêndoas (endosperma e embrião). Entretanto, Mok (1972), avaliando a viabilidade das sementes de dendezeiro pelo teste de tetrazólio, recomendou que no pré-condicionamento (hidratação) fossem utilizadas amêndoas (endosperma e embrião) de dendezeiro, em água, imediatamente após a retirada das amêndoas do endocarpo, por uma noite. Em seguida, essas amêndoas eram cortadas longitudinalmente através do opérculo, para exposição do embrião e, a metade da amêndoa com o embrião era novamente embebida em água para hidratação, por um período de sete horas, à temperatura de 28 °C, para posterior embebição em solução de tetrazólio a 1%, no escuro, à temperatura ambiente, por 14 horas. Essa metodologia permitiu ao autor avaliar a viabilidade dos embriões

de sementes de dendezeiro, por meio da intensidade e homogeneidade da coloração. Também Murugesan et al. (2002), avaliando a viabilidade das sementes de dendezeiro pelo teste de tetrazólio, utilizaram metodologia semelhante à de Mok (1972) diferindo apenas no condicionamento dos embriões em solução de tetrazólio, onde os autores utilizaram embriões extraídos das amêndoas.

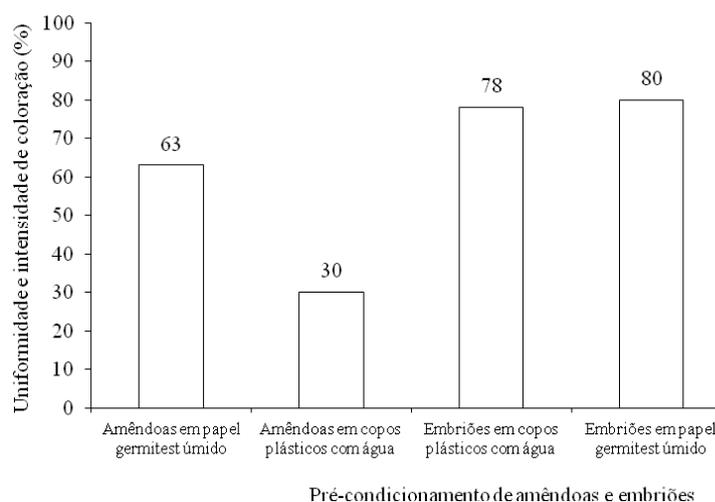


Figura 4 – Uniformidade e intensidade de coloração de amêndoas (endosperma e embrião) e de embriões de sementes de dendezeiro submetidos a duas formas de preparo das sementes (amêndoas e embriões) e pré-condicionados em papel germitest úmido e em copos plásticos (nº 6), diretamente em água. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

Para outras espécies de palmeiras como coquinho azedo (*Butia capitata* (Mart) Becc), Fernandes et al. (2007), também verificaram que o método de extração dos embriões foi o mais eficiente, pois a exposição do endosperma e a secção longitudinal do endosperma não permitiram a coloração dos embriões de coquinho azedo. Para palmeira em geral, Meerow e Broschat (2004), recomendaram uma secção do endosperma e posterior embebição em solução de tetrazólio a 1%, por um período de duas horas, na ausência de luz.

Em relação aos substratos testados nesse experimento, verificou-se que os substratos de papel germitest e o de copo plástico descartável proporcionaram uma hidratação mais uniforme dos embriões. Segundo Marcos Filho (2005), o pré-condicionamento (embebição) das sementes entre folhas de papel-toalha ou de filtro, de maneira lenta, tem como finalidade ativar o metabolismo enzimático, facilitar o preparo das sementes e o desenvolvimento da coloração durante o contato das sementes com a solução de tetrazólio.

Pelos resultados recomenda-se a extração dos embriões e o pré-condicionamento em papel germitest ou em copos plásticos descartáveis, porém em papel germitest obteve-se maior facilidade e praticidade de manuseio do que copos plásticos descartáveis.

3.3. Experimento 3 – Padronização do teste de tetrazólio

Verificou-se na Tabela 1 que houve efeito significativo para as fontes de variação analisadas: temperatura de embebição dos embriões em água tanto para viabilidade como para o vigor, temperatura de embebição dos embriões em solução de TZ somente para o vigor e para a interação entre as variáveis: temperatura de embebição dos embriões em água x temperatura de embebição dos embriões em TZ, tanto para viabilidade como para o vigor e, para temperatura de embebição dos embriões em água x concentração da solução de TZ, para o vigor. Desta forma, verifica-se que as temperaturas estudadas, tanto de embebição dos embriões em água como em tetrazólio, interferem na avaliação da viabilidade e no vigor dos embriões de sementes de dendezeiro (Tabela 1). Ainda, de acordo com a Tabela 1, notou-se que o modelo de regressão linear foi o que melhor se ajustou para a viabilidade e vigor dos embriões de sementes de dendezeiro. Em relação à temperatura de embebição dos embriões em solução de tetrazólio, o modelo de regressão linear também foi o que melhor se ajustou para o vigor. Os modelos de regressão linear, para as variáveis que apresentaram significância, encontram-se representadas na Figura 5.

De acordo com a Figura 5 A, B observou-se que a temperatura de pré-condicionamento dos embriões em água, às temperaturas de 30 °C e 35 °C correlacionaram melhor na viabilidade e no vigor dos embriões de sementes de dendezeiro. Notou-se também que houve forte correlação negativa entre a viabilidade dos embriões de sementes de dendezeiro e a temperatura de embebição dos embriões em água, assim como, também para o vigor.

Segundo Delouche et al. (1976), é desejável e frequentemente necessário, pré-condicionar as sementes, antes de prepará-las para o teste de tetrazólio, pois o pré-condicionamento tem como finalidade hidratar os tecidos, ativar o metabolismo das sementes, proporcionar uma coloração mais limpa e clara e tornar a interpretação mais fácil. De acordo com os autores, o pré-condicionamento se processa mais rapidamente com temperaturas mais elevadas. Em geral, a maioria das sementes são pré-condicionadas satisfatoriamente a cerca de 30 °C, o que vai ao encontro dos resultados obtidos neste experimento, para embriões de

sementes de dendezeiro, levando-se em consideração que foram utilizadas sementes recém-colhidas, de um único cacho de frutos, supondo-se serem estas viáveis e vigorosas.

Tabela 1 - Quadrados médios da análise de variância para as variáveis viabilidade e vigor de embriões de sementes de dendezeiro em função das diferentes temperaturas de embebição em água e em tetrazólio e concentrações do sal de tetrazólio. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| FV | GL | Quadrado Médio | |
|---|----|------------------------|-----------------------|
| | | Viabilidade | Vigor |
| Temperatura de embebição em água | 2 | 2507,8518** | 4226,7407** |
| Regressão Linear | 1 | 3761,7778** | 8402,7778** |
| Resíduo | 52 | 145,2080 | 157,2528 |
| CV (%) | | 17,31 | 34,87 |
| Temperatura de embebição em solução de TZ | 2 | 138,9630 ^{ns} | 674,7407** |
| Regressão Linear | 1 | 277,7778 ^{ns} | 1296,00* |
| Resíduo | 52 | 212,2080 | 293,9216 |
| CV (%) | | 20,92 | 47,67 |
| Concentração da solução de TZ | 2 | 14,5185 ^{ns} | 14,7407 ^{ns} |
| Regressão Linear | 1 | 8,6154 ^{ns} | 9,2417 ^{ns} |
| Resíduo | 52 | 217,3842 | 318,6670 |
| CV (%) | | 21,17 | 49,64 |
| Temperatura ¹ em água* Temperatura ¹ emTZ | 4 | 710,0741** | 622,0741** |
| Temperatura ¹ em água*Concentração da solução | 4 | 82,9630 ^{ns} | 230,0741* |
| Temperatura ¹ emTZ*Concentração da solução | 4 | 100,7407 ^{ns} | 76,7407 ^{ns} |
| Resíduo | 35 | 68,9947 | 86,6265 |
| Total | 53 | 11312,5926 | 16579,9259 |
| Média Geral | | 69,6296 | 35,9630 |
| CV (%) | | 11,9293 | 25,8803 |

^{ns} – não significativo ($p \geq 0,05$); * - significativo a 5% de probabilidade pelo teste F ($0,01 \leq p \leq 0,05$); ** - significativo a 1% de probabilidade pelo teste F ($p < 0,01$); ¹ – Temperatura¹ – Temperatura de embebição; GL – Grau de liberdade; TZ – tetrazólio; CV – Coeficiente de variação;

As porcentagens de viabilidade e vigor foram baixos para os embriões embebidos em água, à temperatura de 40 °C e notou-se também, nesta temperatura, quantidade maior de embriões não coloridos em relação às demais temperaturas estudadas. Para o vigor e viabilidade, notou-se ainda que conforme aumentou-se a temperatura de embebição dos embriões em água houve um reflexo decrescente no vigor destes (Figura 5 A, B). Houve uma relação inversamente entre o aumento das temperaturas estudadas e o vigor, ou seja, à medida que se aumentou a temperatura de embebição em água houve um decréscimo no vigor.

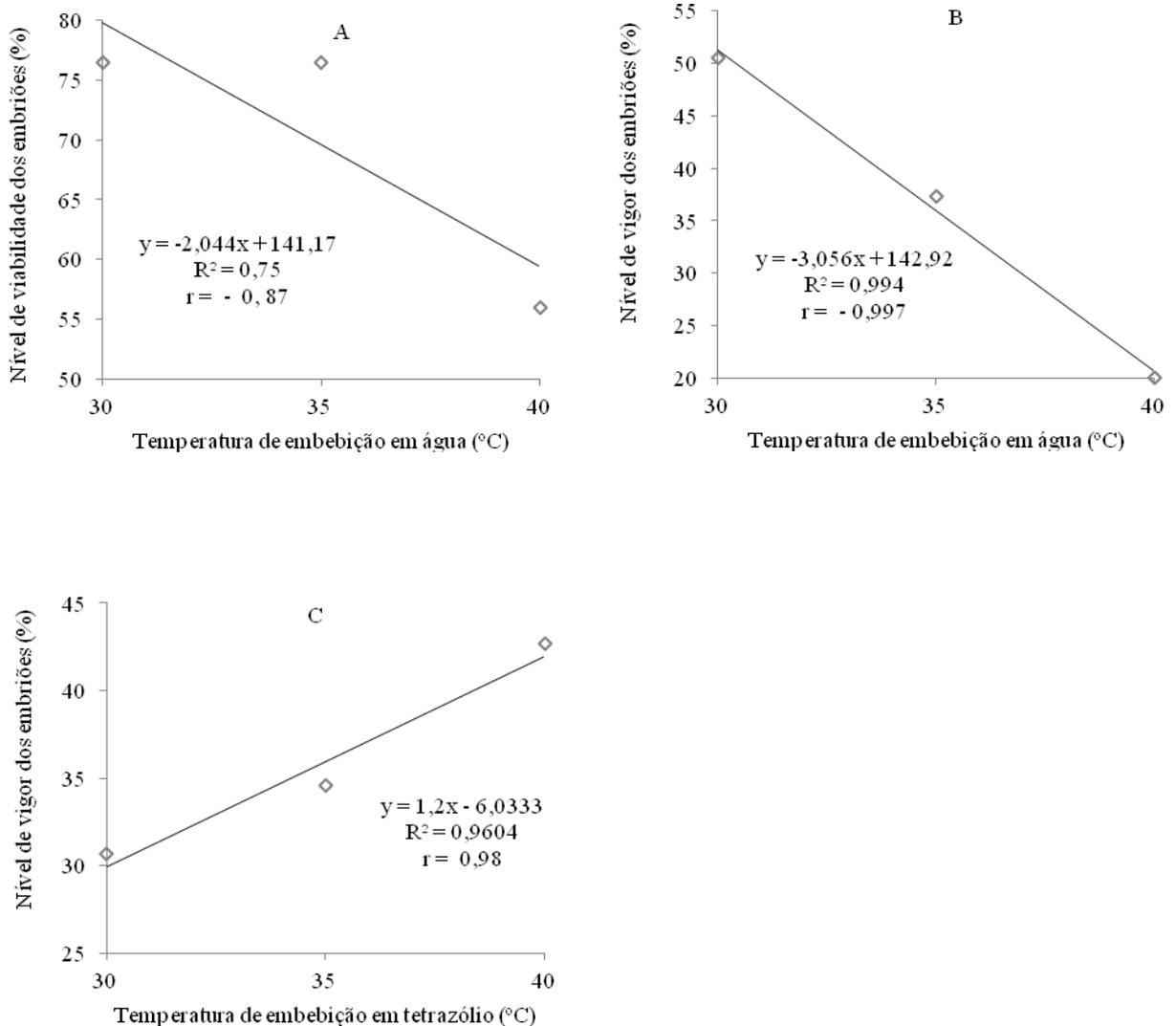


Figura 5 – Níveis de viabilidade e vigor dos embriões de sementes de dendezeiro submetidos a diferentes combinações de temperaturas de embebição dos embriões em água (A, B) e em tetrazólio (C). Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

As diferenças observadas quanto aos padrões de coloração, que refletiram no vigor e viabilidade dos embriões de sementes de dendezeiro, devem-se exclusivamente aos tratamentos utilizados. Verifica-se que este comportamento foi semelhante ao encontrado no experimento 1, onde verificou-se que as piores porcentagens de uniformidade e intensidade de coloração foi quando os embriões foram embebidos em água, à temperatura de 40 °C. Talvez isto se deva a utilização de uma alta temperatura (40 °C) por um tempo de pré-embebição

muito longo (16 horas), o que talvez explicasse a baixa porcentagem de viabilidade e vigor encontrada para os embriões de sementes de dendezeiro neste tratamento.

De acordo com as RAS (Brasil, 2009), o tempo de pré-condicionamento das sementes, para a maioria das espécies, é de 16 a 18 horas, à temperatura de 20 a 25 °C. Ainda, segundo as RAS (Brasil, 2009), para a única espécie de palmeira *Koelreuteria* ssp., dentre as espécies citadas, o tempo de pré-umedecimento é de 18 horas, à temperatura de 20 °C.

Com relação à embebição dos embriões em solução de tetrazólio (Figura 5 C), conforme se verificou que a temperatura que melhor refletiu o vigor dos embriões foi a temperatura de 40 °C. Verificou-se que à medida que aumentou a temperatura de embebição em tetrazólio também aumentou o reflexo no vigor dos embriões. Notou-se também que houve uma forte correlação positiva entre o vigor dos embriões e a temperatura de embebição dos embriões em tetrazólio. Mais uma vez pode-se constatar resultado semelhante aos experimentos anteriores, onde foram utilizadas sementes recém-colhidas, provenientes de um único cacho de frutos, e, desta forma, supõe serem estas vigorosas e viáveis.

Com relação às concentrações da solução de tetrazólio utilizadas neste experimento, verifica-se que as três concentrações estudadas podem ser usadas para o teste de tetrazólio, uma vez que não apresentaram diferenças significativas (Tabela 1). Sendo assim, pode-se optar pela de menor concentração, ou seja, 0,075%, que promoverá maior economia na execução do teste, sem comprometimento na “legitimidade” do mesmo.

Além de Mok (1972), outros trabalhos utilizaram o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade em sementes de dendezeiro como os trabalhos de Villa et al. (2007) e os de Murugesan et al. (2002). Comparando os resultados deste experimento com os de Villa et al. (2007), apesar de algumas diferenças no método empregado, percebeu-se visualmente, neste trabalho, que a utilização da concentração do sal de tetrazólio a 0,5% resultou em uma coloração muito intensa dos embriões, o que pode até dificultar a interpretação dos resultados. Murugesan et al. (2002) observaram que o condicionamento dos embriões por quatro horas, nas concentrações de 0,75% e 0,5%, à temperatura de 40 °C, proporcionou coloração satisfatória dos embriões.

A avaliação da viabilidade das sementes de palmeiras em geral, Meerow e Broschat (2004), recomendaram uma secção do endosperma e posterior embebição em solução de tetrazólio à concentração de 1%, durante duas horas, na ausência de luz. Para sementes de algumas espécies de palmeira como macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart.), Ribeiro et al. (2010), visando estabelecer critérios para aplicação do teste de tetrazólio em embriões de sementes, verificaram que não há necessidade de pré-condicionar os embriões em

água, antes de serem embebidos em solução de tetrazólio. Os autores utilizaram concentração da solução de tetrazólio a 0,5% e temperatura de 35 °C. Fernandes et al. (2007) avaliaram a viabilidade de embriões de sementes de coquinho azedo (*Butia capitata* (Mart) Becc), utilizando concentração do sal de tetrazólio a 0,5%, por um período de quatro horas, à temperatura ambiente, o que permitiu melhor visualização da coloração dos tecidos. Spera et al. (2001), para avaliar a viabilidade de embriões de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa* L.), utilizaram a concentração de 1% do sal de tetrazólio, à temperatura de 30 ± 2 °C, durante cinco horas.

Dentre as concentrações da solução de tetrazólio de 0,075, 0,1 e 0,5% avaliadas neste estudo, verificou-se que as três concentrações do sal podem ser recomendadas, mas em termos de economia opta-se pela menor concentração, tendo uma economia de aproximadamente de 15% em relação à concentração de 0,5%.

Diante destas considerações, para aplicação do teste de tetrazólio em embriões de sementes de dendezeiro, recomenda-se: extrair e embeber os embriões em papel germitest umedecido, à temperatura de 30 ou 35 °C, por 12 a 16 horas (geralmente por uma noite) e embeber os embriões em solução de tetrazólio por quatro horas, à temperatura de 40 °C. Aconselha-se utilizar o sal de tetrazólio na concentração de 0,075%.

3.4. Experimento 4 – Correlação da viabilidade pelo teste de tetrazólio com a germinação de sementes de dendezeiro

Verificou-se pela Tabela 2, que as porcentagens médias de viabilidade dos embriões de sementes de dendezeiro foram de 98% e 93,93%, obtidas pelo teste de tetrazólio e de germinação clássica, respectivamente. Os resultados obtidos para os testes de tetrazólio e germinação estão dentro das tolerâncias máximas admitidas para cada teste de acordo com as RAS, significando que os resultados dos testes são válidos, segundo Brasil (2009). Apesar de ainda não existir instruções técnicas e procedimentos para o teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro, os resultados encontrados corroboram com outros trabalhos como os de França Neto et al., (1999), onde os autores afirmaram que em condições normais, os resultados de viabilidade obtidos nos testes de germinação e tetrazólio devem ser semelhantes, permitindo diferenças até 5% entre os mesmos. Desta forma, verificou-se que a diferença média encontrada em sementes de dendezeiro foi de 4% (Tabela 2).

Tabela 2 – Porcentagem média de viabilidade e vigor das sementes de dendezeiro pelos testes de tetrazólio e de germinação clássica. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| Viabilidade (TZ)* | Germinação clássica | Primeira contagem | Semente padrão comercial |
|-------------------|---------------------|-------------------|--------------------------|
| (%) | | | |
| 98 | 93,93 | 93,48 | 93,48 |

*TZ: Teste de tetrazólio.

Observou-se que a variável germinação clássica apresentou alta correlação significativa com as variáveis: primeira contagem e semente padrão normal ($r = 0,9798$). Salienta-se que neste experimento foram utilizadas sementes provenientes de um único cruzamento de cultivar comercial. Neste sentido, os resultados encontrados corroboram com outros trabalhos como os de Mok (1972) que também avaliou a viabilidade de sementes de dendezeiro por meio dos testes de tetrazólio e de germinação. O autor encontrou pelo teste de tetrazólio, valores médios de 98,6% de viabilidade dos embriões e, pela germinação clássica, 95% de germinação das sementes de dendezeiro recém-colhidas. O autor concluiu que o teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliação rápida da viabilidade das sementes de dendezeiro. Nota-se que para obtenção dos resultados, pelo teste de tetrazólio, são necessários no máximo três dias, enquanto que pelo teste de germinação, no mínimo três meses.

Tabela 3 – Coeficientes de correlação para as variáveis obtidas pelos testes de tetrazólio (TZ)¹ e de germinação clássica de sementes de dendezeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| | Viabilidade (TZ) ¹ | Germinação clássica | Primeira contagem | Semente padrão comercial |
|-------------------------------|-------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| Viabilidade (TZ) ¹ | - | - 0,7071 ^{ns} | - 0,8083 ^{ns} | - 0,8083 ^{ns} |
| Germinação clássica | - | - | 0,9798* | 0,9798* |
| Primeira contagem | - | - | - | 1,0 ^{ns} |
| Semente comercial | - | - | - | - |

^{ns} – não significativo ($p \geq 0,05$); * - significativo a 5% de probabilidade pelo teste F ($0,01 \leq p \leq 0,05$).

Murugesan et al. (2002), também avaliando a viabilidade de sementes de dendezeiro, por meio dos testes de tetrazólio, germinação e cultura *in vitro* verificaram que a porcentagem

de germinação dos embriões obtidos foram de 93% e 87%, para cultura *in vitro* e germinação, respectivamente e que a porcentagem de viabilidade das sementes, pelo teste de tetrazólio, foi de 88 a 92%, nas concentrações de 0,5% e 0,75%, respectivamente. Pela as avaliações das percentagens médias de viabilidade, nos teste de tetrazólio, germinação e germinação *in vitro*, o autor concluiu que existe uma estreita relação entre os testes utilizados para avaliar a viabilidade das sementes de dendezeiro.

Pelos resultados concluiu-se que o teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliar, de forma rápida e segura, a viabilidade e o vigor das sementes de dendezeiro.

4. CONCLUSÕES

As avaliações da intensidade, homogeneidade e localização das partes coloridas nos embriões (tigelo e haustório) resultaram na descrição de seis classes de padrões de coloração. As Classes de 1 a 4 corresponderam às sementes viáveis e vigorosas. A Classe 5 correspondeu às sementes apenas viáveis e não vigorosas e a Classe 6 correspondeu às sementes que não são viáveis.

Os melhores procedimentos para avaliação da viabilidade das sementes de dendezeiro foram a extração dos embriões e o condicionamento em papel germitest ou em copos de plásticos descartáveis, o que permitiram melhor hidratação, intensidade e homogeneidade de coloração do que a utilização de amêndoas (endosperma e embrião). Porém, a utilização de papel germitest proporcionou maior facilidade e praticidade de manuseio do que copos plásticos descartáveis.

Para aplicação do teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro recomenda-se extrair e embeber os embriões em papel germitest umedecido, à temperatura de 30 ou 35 °C, por 12 a 16 horas (geralmente por uma noite) e embeber os embriões em solução de tetrazólio por quatro horas, à temperatura de 40 °C e concentração do sal de tetrazólio a 0,075%.

O teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliar, de forma rápida e segura, a viabilidade e o vigor das sementes de dendezeiro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOSA - Association of Official Seed Analysts. The Seed Vigor Test Committee. Seed Vigor Testing Handbook (S.1.). *The Handbook on Seed Testing, Contribution*, 88p. 1983.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 395p. 2009.

Corrado, F.; Wuidart, W. Germination des graines de palmier à huile (*E. guineensis*) em sacs de polyéthylène. Méthode par “charleur sèche”. *Oléaginex*, v. 45, n. 11, p. 511-514, 1990.

Cruz, C.D. *Programa Genes: Biometria*. Editora UFV. Viçosa. 382p. 2006.

Cunha, R.N.V.; Lopes, R.; Dantas, J.C.R.; Rocha, R.N.C. Procedimentos para produção de sementes comerciais de dendezeiro na Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus, Embrapa Amazônia Ocidental. *Série Documentos*, n.54, 34p., 2007.

Delouche, J.C.; Potts, H.C. *Programa de sementes: planejamento e implantação*. Brasília, Agiplan: Ministério da Agricultura, 118p. 1974.

Delouche, J.C.; Still, T.W.; Raspet, M.; Lienhard, M. *O teste de tetrazólio para viabilidade da semente*. Tradução de Flávio F. Rocha. Brasília, Agiplan: Ministério da Agricultura. 102p. 1976.

Fernandes, R.C.; Magalhães, H.M.; Lopes, P.S.N.; Brandão Júnior, D.S.; Fernandes, R.C.; Gomes, J.A.O.; Paulino, M.A.O.; Carneiro, P.A.P. Elaboração de metodologia de aplicação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes de coquinho azedo *Butia capitata* (Mart) Becc. Resumos do V Congresso Brasileiro de Agroecologia. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 2. p. 1004–1007, 2007.

Ferreira, S.A.N.; Sader, R. Avaliação da viabilidade de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes*) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 9, n. 2, p. 109-114, 1987.

Fondom, N. Y.; Etta, C.E.; Mih, A.M. Breaking Seed Dormancy: Revisiting Heat-treatment Duration on Germination and Subsequent Seedling Growth of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Progenies. *Journal of Agricultural Science*, v. 2, n. 2, p. 101-110, 2010.

França Neto, J. B.; Krzyzanowski, F. C.; Costa, N. P. O teste de tetrazólio em sementes de soja. Londrina: Embrapa-CNPSo. *Série Documentos*, n. 116, 72p., 1998.

França Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C.; Costa, N.P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, Comitê de Vigor de Sementes. Londrina: Abrates, p. 8.5-2-8.5-28, 1999.

Grabe, D.F. *Manual do teste de tetrazólio em sementes*. Tradução de Flávio F. Rocha. Brasília, Agiplan: Ministério da Agricultura. 85p. 1976.

Green, M.; Lima, W.A.A.; Fausto, A.M.C. Procedimentos preliminares para teste de tetrazólio em sementes de palma de óleo ou dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). XVII Congresso Brasileiro de Sementes, de 15 a 18 de agosto de 2011. Natal: Informativo Abrates, v. 21, n. 2, 2011.

Krzyzanowski, F.C.; França Neto, J.B.; Henning, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. *Informativo Abrates*, v. 1, n. 2, p15-50, 1991.

Marcos Filho, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 495p. 2005.

Meerow, A.W.; Broschat, T.K. Palm seed germination. Institute of Food and Agricultural Sciences. Florida, 2004. p.1-9. (Florida Cooperative Extension Service. Bulletin, 274).

Mok, K.C. The tetrazolium test for evaluating the viability of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. Proceedings of the International Seed Testing Association, v. 37, n. 3, p.771-77, 1972.

Moore, R.P. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: *Seed Ecology*. Ed. Heydecker, W. London: Butterworth, p. 347-366, 1973.

Murugesan, P.; Vanangamudi, K.; Umarani, R. Evaluation of viability of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seeds by tetrazolium test and comparison with germination and in vitro culture results. *Proceedings of Placrosym XV*, p. 246-250, 2002.

Oliveira, L.M.; Carvalho, M.L.M.; Davide, A.C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert Leguminosae Caesalpinioideae. *Cerne*, Lavras, v. 11, n. 2, p. 159-166, 2005.

Pinto, T.L.F.; Brancalion, P.H.S.; Novembre, A.D.L.C.; Cicero, S.M. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* Benth. - Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 30, n. 1, p. 208-214, 2008.

Popinigis, F. *Fisiologia da semente*. 2 ed., Brasília, Agiplan, 289p. 1985.

Ribeiro, L.M.; Garcia, Q.S., Oliveira, D.M.T.; Neves, S.C. Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v. 45, n. 4, p. 361-368, 2010.

SAS Institute Inc. SAS system for microsoftwindows. Version 9. Cary, 2002.

Spera, M.R.N; Cunha, R.; Teixeira, J.B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36. p.1567-1572, 2001.

Vargas, P.F. Processo germinativo de la semilla de palma de aceite. *Primer Curso International de Palma de Aceite*. Memorias. Cenipalma: Colombia, p. 55-68, 1996.

Vieira, M.G.G.C.; Pinho, E.V.R.V. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, Comitê de Vigor de Sementes. Londrina: Abrates, p. 8.1.1-8.1.13, 1999.

Villa, A.L.; Jiménez, P.É.; Valbuena, R.I.; Bastidas, S.; Núñez, V.M. Estudio preliminar para el establecimiento de un protocolo de crioconservación para palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Agronomía Colombiana*, v. 25 n. 2, p. 215-223, 2007.

APÊNDICE

CAPÍTULO I

TRATAMENTO TÉRMICO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Tabela 1 – Quadrados médios da análise de variância da regressão linear para a variável germinação das cultivares de dendezeiro em função de diferentes períodos de tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| FV | GL | Quadrado Médio |
|----------------------|----|-------------------------|
| Germinação | | |
| Regressão Linear | 1 | 0,2480 ^{ns} |
| Regressão Quadrática | 1 | 5158,4142 ^{**} |
| Resíduo | 93 | 382,9548 |
| CV (%) | | 28,9657 |

^{ns} – não significativo ($p \geq 0,05$), * - significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F ($0,01 \leq p \leq 0,05$), ** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F ($p < 0,01$), CV – Coeficiente de variação.

Tabela 2 - Quadrados médios da análise de variância da regressão linear para a variável germinação das diferentes cultivares de dendezeiro em função de diferentes períodos de tratamento térmico. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2012.

| FV | GL | BRS 2001 | BRS 2328 | BRS 2501 | BRS 2528 | BRS 3701 | BRS 7201 |
|---------------|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Germinação | | | | | | | |
| R. linear | 1 | 1136,9566 ^{**} | 8678,6112 ^{**} | 2237,1413 ^{**} | 933,1146 ^{**} | 3077,1843 ^{**} | 58,6702 ^{ns} |
| R. quadrática | 1 | 1985,3708 ^{**} | 3033,8064 ^{**} | 485,6514 [*] | 156,6252 ^{ns} | 1011,8761 [*] | 98,5552 ^{ns} |
| Resíduo | 13 | 52,5854 | 51,256 | 80,7695 | 46,4357 | 182,5005 | 26,2763 |
| CV (%) | | 12,4727 | 14,4911 | 11,6945 | 9,253 | 20,7277 | 6,2401 |

^{ns} – não significativo ($p \geq 0,05$); * - significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F ($0,01 \leq p \leq 0,05$); ** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F ($p < 0,01$); R – Regressão; CV – Coeficiente de variação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (INTRODUÇÃO)

AOSA - Association of Official Seed Analysts. The Seed Vigor Test Committee. Seed Vigor Testing Handbook (S.1.). *The Handbook on Seed Testing, Contribution*, 88p. 1983.

Beugré, M.M.; Kouakou, L.K.; Bognonké, P.J.; Konan, E.K.; Kouakou, H.T.; Kouadio, J.Y. Effect of storage and heat treatments on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*, 4:10, 931-937, 2009.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 395p. 2009.

Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 588p. 2000.

Corley, R.H.V.; Tinker, P.B. *The Oil Palm*. Fourth edition, Blackwell Science, Oxford, 608 p. 2003.

Cunha, R.N.V.; Lopes, R.; Dantas, J.C.R.; Rocha, R.N.C. Procedimentos para produção de sementes comerciais de dendezeiro na Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus, Embrapa Amazônia Ocidental. *Série Documentos*, n.54, 34p., 2007.

Delouche, J.C.; Still, T.W.; Raspét, M.; Lienhard, M. *O teste de tetrazólio para viabilidade da semente*. Tradução de Flávio F. Rocha. Brasília, Agiplan: Ministério da Agricultura. 102p. 1976.

Fernandes, R.C.; Magalhães, H.M.; Lopes, P.S.N.; Brandão Júnior, D.S.; Fernandes, R.C.; Gomes, J.A.O.; Paulino, M.A.O.; Carneiro, P.A.P. Elaboração de metodologia de aplicação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes de coquinho azedo *Butia capitata* (Mart) Becc. Resumos do V Congresso Brasileiro de Agroecologia. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 2. p. 1004–1007, 2007.

Ferreira, A.G.; Borghetti, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 323p. 2004.

Ferreira, S.A.N.; Sader, R. Avaliação da viabilidade de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes*) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 9, n. 2, p. 109-114, 1987.

Fondom, N. Y.; Etta, C.E.; Mih, A.M. Breaking Seed Dormancy: Revisiting Heat-treatment Duration on Germination and Subsequent Seedling Growth of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Progenies. *Journal of Agricultural Science*, v. 2, n. 2, p. 101-110, 2010.

França Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C.; Costa, N.P. O teste de tetrazólio em sementes de soja. Londrina: Embrapa/CNPSo. Série Documentos, 116, 72p.1998.

Hussey, G. An analysis of the factors controlling the germination of seed of the oil palm, *Elaeis guineensis* (Jacq.). *Annals of Botany*, 22, 259-284, 1958.

Krzyzanowski, F.C.; França Neto, J.B.; Henning, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. *Informativo Abrates*, v. 1, n. 2, p15-50, 1991.

Lima, W.A.A. Perspectivas de futuro em relação à produção de óleo para alimentação, cosméticos e o biodiesel. *Agroenergia em Revista*. Ed. 2. p.33, 2011.

Mapa. Anuário Estatístico da Agroenergia. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Brasília: Secretaria de Produção e Agroenergia, 223p. 2010.

Marcos Filho, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 495p. 2005.

Meerow, A.W.; Broschat, T.K. Palm seed germination. Institute of Food and Agricultural Sciences. Florida, 2004. p.1-9. (Florida Cooperative Extension Service. Bulletin, 274).

Mok, C.K. Heat requirement for breaking dormancy of the oil palm seeds after storage under different conditions. In: Pushparajah, E.; Chew, P.S. (Eds.). *The Oil Palm in Agricultural Development in the Eighties*, The Incorporated Society of Planters, Kuala Lumpur, 197-206, 1982.

Mok, K.C. The tetrazolium test for evaluating the viability of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. Proceedings of the International Seed Testing Association, v. 37, n. 3, p.771-77, 1972.

Murugesan, P.; Vanangamudi, K.; Umarani, R. Evaluation of viability of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seeds by tetrazolium test and comparison with germination and in vitro culture results. *Proceedings of Placrosym XV*, p. 246-250, 2002.

Pereira, L.A.G.; Bianchetti, A. Fatores que afetam a viabilidade das sementes. *Boletim Técnico 2*. Londrina: Embrapa/CNPSo, 18p. 1977.

Popinigis, F. *Fisiologia da semente*. 2 ed., Brasília, Agiplan, 289p. 1985.

Rees, A.R. High-temperature pre-treatment and germination of seed of oil palm, *Elaeis guineensis* (Jacq.). *Annals of Botany*, 26, 4:569-581, 1962.

Rees, A.R. A Large Scale Test of Storage Methods for Oil Palm Seeds. *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research*. 4:46-51, 1963.

Rees, A.R. Some factors affecting the viability of oil palm seed in storage. *Journal of the Nigerian Institute for Oil Palm Research*, 15: 317-325, 1965.

Ribeiro, L.M.; Garcia, Q.S., Oliveira, D.M.T.; Neves, S.C. Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v. 45, n. 4, p. 361-368, 2010.

Spera, M.R.N; Cunha, R.; Teixeira, J.B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36. p.1567-1572, 2001.

USDA. United States Department of Agriculture. Economics, Statistics, and Market Information System. Disponível em:
<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>. Acesso em 20 de março de 2012.

Vargas, P.F. Processo germinativo de la semilla de palma de aceite. *Primer Curso International de Palma de Aceite*. Memorias. Cenipalma: Colombia, p. 55-68, 1996.

Venturieri, A. Evolução da área plantada com palma de óleo no Brasil, com ênfase no estado do Pará. *Agroenergia em Revista*. Ed. 2. p.18, 2011.

Villa, A.L.; Jiménez, P.É.; Valbuena, R.I.; Bastidas, S.; Núñez, V.M. Estudio preliminar para el establecimiento de un protocolo de crioconservación para palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Agronomia Colombiana*, v. 25 n. 2, p. 215-223, 2007.

CONCLUSÃO GERAL

As análises dos dados e interpretação dos resultados deste trabalho permitiram concluir que:

Para as cultivares de dendezeiro analisadas, sementes com grau de umidade de $18\% \pm 0,5$ podem ser acondicionadas no termogerminador por 60 dias, ao invés de 80 dias, sem comprometer o processo germinativo.

A germinação máxima das sementes de dendezeiro das cultivares analisadas foi influenciada pelo tempo de tratamento térmico, variando este de acordo com a cultivar.

Com exceção da cultivar BRS C2528, é possível reduzir o período de tratamento térmico utilizado para quebra de dormência das sementes das cultivares de dendezeiro produzidas pela Embrapa e obter a germinação máxima das sementes.

Para incremento na taxa de germinação, o período de permanência das sementes no termogerminador foi inversamente proporcional ao período de permanência no armazenamento, ou seja, sementes com até cinco meses de armazenamento (cultivares BRS C2001, BRS C2328 e BRS C7201) requerem período de permanência menor no termogerminador em comparação às recém-colhidas (cultivares BRS C2501, BRS C2528 e BRS C3701).

As avaliações da intensidade, homogeneidade e localização das partes coloridas nos embriões (tigelo e haustório) resultaram na descrição de seis classes de padrões de coloração: as Classes de 1 a 4 corresponderam às sementes viáveis e vigorosas; a Classe 5 correspondeu às sementes apenas viáveis e não vigorosas e a Classe 6 correspondeu às sementes que não são viáveis.

Os melhores procedimentos para avaliação da viabilidade das sementes de dendezeiro foram a extração dos embriões e o condicionamento em papel germitest ou em copos de plásticos descartáveis, o que permitiram melhor hidratação, intensidade e homogeneidade de coloração do que a utilização de amêndoas (endosperma e embrião). Porém, a utilização de

papel germitest proporcionou maior facilidade e praticidade de manuseio do que copos plásticos descartáveis.

Para aplicação do teste de tetrazólio em sementes de dendezeiro recomenda-se extrair e embeber os embriões em papel germitest umedecido, à temperatura de 30 ou 35 °C, por 12 a 16 horas (geralmente por uma noite) e embeber os embriões em solução de tetrazólio por quatro horas, à temperatura de 40 °C e concentração do sal de tetrazólio a 0,075%.

O teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliar, de forma rápida e segura, a viabilidade e o vigor das sementes de dendezeiro.