

10038  
MFA: 10239

IVO PEREIRA DE CAMARGO

**ESTUDOS SOBRE A PROPAGAÇÃO DA CASTANHEIRA-DO-BRASIL**

*(Bertholletia excelsa Humb. & Bonpl.)*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

**Orientador**

Prof. MOACIR PASQUAL

BIBLIOTECA CENTRAL - UFLA



10038

BIBLIOTECA CENTRAL

UFLA

N.º CLASSIFICAÇÃO T634.533

CAM

est

N.º REGISTRO 10038

DATA 08 / 04 / 97

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
1997

**Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da  
Biblioteca Central da UFLA**

Camargo, Ivo Pereira de  
Estudos sobre a propagação da castanheira-do-brasil  
(*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.). --  
Lavras : UFLA, 1997.  
127 p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual  
Tese (Doutorado) - UFLA.  
Bibliografia.

1. Castanheira-do-brasil. 2. *Bertholletia excelsa*.  
3. Semente - Análise. 4. Anatomia. 6. Teste de  
Tetrazólio. 7. Substrato. 8. Propagação. 8 Ecologia  
9. Cultura de tecidos. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título

CDD - 634.575  
- 634.5753

**IVO PEREIRA DE CAMARGO**

**ESTUDOS SOBRE A PROPAGAÇÃO DA CASTANHEIRA-DO-BRASIL**

*(Bertholletia excelsa Humb. & Bonpl.)*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, área de concentração em Fitotecnia para obtenção do título de “Doutor”.

**APROVADA em 21 de fevereiro de 1997**



**Pesq. João Baptista Teixeira**



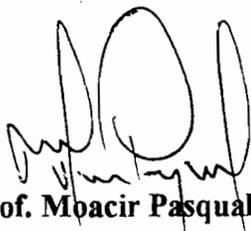
**Prof.<sup>a</sup> Maria de Fátima Barbosa Coelho**



**Prof.<sup>a</sup> Maria Laene M. de Carvalho**



**Prof. Renato Paiva**



**Prof. Moacir Pasqual**

**Orientador**

DEDICO ESTA OBRA

Aos meus pais Ruy e Léa

À minha esposa Cássia

Aos meus filhos Flora e Ariel

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso por possibilitar esta capacitação.

À Universidade Federal de Lavras, através do corpo docente e servidores técnico-administrativos, pelo apoio durante a realização do curso.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Doutorado, e pelos auxílios instalação e retorno.

Aos professores Maria Laene M. de Carvalho, Maria das Graças G. C. Vieira, Manuel Losada Gavilanes, Evaristo Mauro de Castro e Janice Guedes de Carvalho pelo apoio e orientação nas diversas etapas deste treinamento.

Ao amigo Jeferson L. D. Dombroski pelo apoio e companheirismo e aos demais colegas de curso pela agradável convivência.

Aos servidores dos Laboratórios de Análise de Sementes, Cultura de Tecidos e Citologia e Anatomia Vegetal e da Biblioteca Central pelo apoio nas diversas etapas deste trabalho.

Ao pesquisador João Batista Teixeira e aos professores Maria de Fátima B. Coelho e Renato Paiva pelas valiosas sugestões e amizade.

Ao professor e orientador Moacir Pasqual pelo incentivo, orientação e amizade.

A TODOS MUITO OBRIGADO

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 CAPÍTULO 1. ECOLOGIA DA CASTANHEIRA-DO-BRASIL ( <i>Bertholletia excelsa</i> Humb. & Bonpl.).....	2
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	2
2.1 INTRODUÇÃO.....	3
2.2 DESCRIÇÃO BOTÂNICA.....	6
2.3 DISTRIBUIÇÃO E OCORRÊNCIA.....	11
2.4 FENOLOGIA E POLINIZAÇÃO.....	13
2.5 DISPERSÃO DE SEMENTES.....	16
2.6 ESTRUTURA DAS POPULAÇÕES.....	18
2.7 IMPLANTAÇÃO DE CULTIVOS RACIONAIS E PRESERVAÇÃO DE SÍTIOS DE OCORRÊNCIA.....	20
2.8 CONCLUSÕES.....	24
2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
3 CAPÍTULO 2 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DO GRAU DE UMIDADE EM SEMENTES DE CASTANHEIRA-DO- BRASIL.....	34

RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	35
3.1 INTRODUÇÃO.....	36
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.4 CONCLUSÕES.....	42
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
4 CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA DETERIORAÇÃO EM SEMENTES DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL PELO TESTE DE TETRAZÓLIO.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
4.1 INTRODUÇÃO.....	46
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.4 CONCLUSÕES.....	55
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
5 CAPÍTULO 4 CARACTERIZAÇÃO DA GERMINAÇÃO E DA VIABILIDADE EM SEMENTES DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL PELO TESTE DE TETRAZÓLIO.....	58
RESUMO.....	58
ABSTRACT.....	59
5.1 INTRODUÇÃO.....	60
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.4 CONCLUSÕES.....	73
5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
6 CAPÍTULO 5 ASPECTOS DA ANATOMIA E MORFOLOGIA DE AMÊNDOAS E PLÂNTULAS DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL.....	76
RESUMO.....	76

	ABSTRACT.....	77
6.1	INTRODUÇÃO.....	77
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	79
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
6.4	CONCLUSÕES.....	89
6.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
7	CAPÍTULO 6 EFEITO DE SUBSTRATOS SOBRE O CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO MINERAL DE MUDAS DE CASTANHEIRA-DO- BRASIL.....	92
	RESUMO.....	92
	ABSTRACT.....	93
7.1	INTRODUÇÃO.....	93
7.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	95
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	97
7.4	CONCLUSÕES.....	100
7.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
8	CAPÍTULO 7 CULTIVO IN VITRO DE TECIDOS DE CASTANHEIRA- DO-BRASIL.....	104
	RESUMO.....	104
	ABSTRACT.....	105
8.1	INTRODUÇÃO.....	106
8.2	MATERIAL MÉTODOS.....	108
8.2.1	Cultivo de tecidos foliares.....	109
8.2.2	Cultivo de segmentos caulinares.....	110
8.2.3	Cultivo de segmentos de amêndoas.....	113
8.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	113
8.4	CONCLUSÕES.....	122
8.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	124
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	127

## LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Valores médios de graus de umidade, obtidos por diferentes métodos de determinação em sementes de Castanheira-do-brasil, submetidas a diferentes pré-tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 1995.....	40
2	Valores médios de graus de umidade, obtidos por diferentes métodos de determinação, em sementes de Castanheira-do-brasil recém coletadas e submetidas a desidratação em estufa por 24 horas a 30 <sup>o</sup> C. UFLA, Lavras-MG, 1996.....	41
3	Valores das maiores diferenças entre graus de umidade obtidos entre repetições do mesmo tratamento, em sementes de Castanheira-do-brasil, submetidas a diferentes pré-tratamentos e métodos de determinação. UFLA, Lavras-MG, 1995.....	42
4	Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar, durante o período de dezembro de 1994 a abril de 1995. UFLA, Lavras, MG .....	48
5	Valores médios do grau de umidade e do percentual de amêndoas com manchas de coloração branca na secção interna, obtidas pelo teste de tetrazólio, em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 1995.....	50
6	Valores médios do percentual das amêndoas com manchas de coloração branca na secção interna, classificadas nas diferentes categorias, pelo teste de tetrazólio em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 1995.....	54
7	Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar, durante o período de dezembro de 1995 a março de 1996. UFLA, Lavras-MG.....	63

8	Valores médios para as percentagens de amêndoas com secção interna de coloração rósea no teste de tetrazólio, para as percentagens de germinação, de amêndoas com emissão de estruturas germinativas e de amêndoas deterioradas, em diferentes períodos após a sementeira. UFLA, Lavras-MG, 1995.....	65
9	Valores médios para graus de umidade, percentagens de amêndoas com coloração rósea no teste de tetrazólio e percentagens de germinação aos 150 dias após a sementeira, em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 1996.....	72
11	Análise de fertilidade em substratos utilizados para produção de mudas de castanheira-do-brasil. UFLA, Lavras-MG, 1996.....	97
12	Valores médios para os parâmetros de crescimento avaliados em mudas de castanheira-do-brasil produzidas em diferentes substratos, aos nove meses após a repicagem. UFLA, Lavras-MG, 1996.....	98
13	Teores médios de macro e micronutrientes na matéria seca da parte aérea de mudas de castanheira-do-brasil, cultivadas em diferentes substratos. UFLA, Lavras-MG, 1996.....	99

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página	
1	Produção brasileira de castanha-do-brasil oriunda de extrativismo em 1.000 ton. Fonte ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1970/1994.....	4
2	Flor de castanheira-do-brasil ( <i>Bertholletia excelsa</i> Humb. & Bonpl.) antes da antese, em corte longitudinal. 1- Chapéu, 2- Pétala, 3- Sépala, 4- Estaminódios, 5- Estames, 6- Estilete, 7- Ovário.....	8
3	Frutos seccionados de castanheira-do-brasil ( <i>Bertholletia excelsa</i> Humb. & Bonpl.) e suas sementes.....	9
4	Mapa da distribuição da castanheira-do-brasil ( <i>Bertholletia excelsa</i> Humb. & Bonpl.) na região Amazônica. Modificado de Araújo, Jordy Filho e Fonseca (1984) e de Mori e Prance (1990).....	13
5	Padrões de coloração obtidos pelo teste de tetrazólio em secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil.....	51
6	Curvas de regressão para os valores de umidade e percentual de amêndoas com coloração branca obtidas pelo teste de tetrazólio, em relação ao tempo de armazenamento.....	52
7	Diferentes categorias de amêndoas, classificadas de acordo com a área de coloração interna branca, obtidas pelo teste de tetrazólio. Nota 1- até 10% da área da secção interna da amêndoa com cor branca; Nota 2- de 10 a 50%; Nota 3- mais de 50%.....	54
8	Comparação entre amêndoas de castanheira-do-brasil sem danos (primeira a direita) e com danos mecânicos observados após o teste de tetrazólio.....	55
9	Padrões de coloração obtidos em secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil, retiradas da sementeira, sem deterioração externa visível e submetidas ao teste de tetrazólio.....	66

- 19 Efeito de 2,4D e BAP sobre a percentagem de explantes foliares que produziram calos aos 50 dias após o início de cultivo. Concentrações seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%..... 118
- 20 Efeito de meios de cultura de Murashige e Skoog (1962), básico (MS) e deste suplementado com 20% de água de côco (AC), 8,8  $\mu\text{M}$  de BAP (BAP), 2,26  $\mu\text{M}$  de 2,4D (2,4D) e com BAP e 2,4D a 8,8 e 2,26  $\mu\text{M}$  respectivamente (BAP+2,4D). Meios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%..... 118
- 21 Efeito de diferentes tratamentos sobre a oxidação de segmentos nodais. (1) - Explantes oriundos do escuro. (2) - Explantes normais. (3) - Meio MS com a metade da concentrações de sais. (4) - Meio WPM sólido. (5) - Meio MS com PVP a 200  $\text{mgL}^{-1}$ . (6) - PVP a 400  $\text{mgL}^{-1}$ . (7) - PVP a 800  $\text{mgL}^{-1}$ . (8) - Meio MS com carvão ativado a 0,5%. (9) - Carvão ativado a 1,0%. (10) - Carvão ativado a 1,5%. (11) - Transposição em meio MS. (12) - Transposição em meio WPM líquido. (13) - Lavagem em água corrente por 24 horas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%..... 119
- 22 Segmentos nodais apresentando brotação (A), formação de calos (B) e brotação com formação de calos (C). Corte longitudinal efetuado em segmentos com calos (D)..... 120
- 23 Efeito de diferentes tratamentos sobre a percentagem de explantes nodais contaminados. (1) - Água destilada autoclavada. (2) - Hipoclorito de sódio por 10'. (3) - Hipoclorito de sódio por 20'. (4) - Hipoclorito de sódio por 40'. (5) - Álcool + tratamento 2. (6) - Álcool + tratamento 3. (7) - Álcool + tratamento 4..... 121
- 24 Segmentos de amêndoas apresentando formação de calos (A). Brotação de parte aérea (B) e formação de calos e brotação (C) e brotação de raiz (D)..... 123

## RESUMO

CAMARGO, Ivo Pereira de. **Estudos sobre a propagação da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.)**. Lavras: UFLA, 1997. 120p. (Tese-Doutorado em Fitotecnia).

Este trabalho teve o objetivo de ampliar os conhecimentos sobre a propagação da castanheira-do-brasil. No primeiro capítulo, são apresentadas informações sobre diversos aspectos da ecologia desta espécie, sendo propostas medidas para preservação de germoplasma e utilização racional deste importante recurso natural. No segundo capítulo, o objetivo foi comparar e selecionar métodos para a determinação do grau de umidade em sementes de castanheira. Os métodos que envolveram a utilização de sementes inteiras a 103°C, 105°C e a 130°C não diferiram entre si e detectaram graus de umidade superiores ou com tendência à superioridade àqueles cujas sementes foram moídas, existindo possibilidades de sua recomendação para esta espécie. No terceiro capítulo, o objetivo foi estabelecer padrões de coloração através do teste de tetrazólio, que permitam avaliar a qualidade fisiológica de sementes de castanheira-do-brasil. O aumento no tempo de armazenamento causou diminuição no grau de umidade e na percentagem de amêndoas com coloração rósea, além de aumento na percentagem de amêndoas com manchas de cor branca,

---

\* Orientador: Moacir Pasqual. Membros da Banca: João Batista Teixeira, Maria de Fátima B. Coelho, Maria Laene M. de Carvalho, Renato Paiva.

que tenderam a tomar toda a secção interna da amêndoa. No quarto capítulo, o objetivo foi caracterizar a germinação e a deterioração em amêndoas de castanheira-do-brasil durante o processo germinativo através do uso do teste de tetrazólio. O teste de tetrazólio efetuado em amêndoas retiradas da sementeira revelou diferentes padrões de coloração, dependendo do estado de deterioração da amêndoa. Foram observadas diminuições nas percentagens de germinação e de amêndoas com coloração rósea, com o aumento no período de armazenamento. A germinação da castanheira ocorreu apartir da diferenciação de tecidos localizados na hipoderme da amêndoa e a deterioração se iniciou com a morte de tecidos localizados na parte interna. No quinto capítulo, o objetivo foi descrever aspectos anatômicos e morfológicos de amêndoas e plântulas de castanheira-do-brasil, caracterizando os tecidos responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas. A amêndoa da castanheira é composta principalmente por tecidos parenquimáticos delimitados por um anel de tecido meristemático, sendo estes envoltos por uma camada epidérmica e uma película lignificada. A parte aérea e a raiz primária são formados apartir dos tecidos meristemáticos pré-existentes, localizados preferencialmente nas regiões dos pólos caulinar e radicular. No sexto capítulo, o objetivo foi avaliar o efeito de diferentes substratos sobre o crescimento e composição mineral de mudas de castanheira-do-brasil. Aos nove meses após a repicagem, foram observadas diferenças significativas entre os substratos, quanto a altura, diâmetro basal, número de folhas, matéria seca e composição mineral da parte aérea. No sétimo capítulo objetivo foi avaliar o comportamento *in vitro* de explantes oriundos de amêndoas e mudas, quanto ao estabelecimento e potencial para morfogênese. Segmentos de folhas jovens, produziram calos, que foram repicados por até cinco vezes em meio de cultura contendo 2,4 D e BAP. Segmentos nodais do caule e segmentos de amêndoas, foram estabelecidos em diversos meios de cultura, produzindo brotações e calos.

## ABSTRACT

### STUDIES IN BRAZIL NUT (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) PROPAGATION

This work has the objective to increase the knowledge about brazil nut propagation. In the first chapter some information in different aspects about the ecology of that specie are presented. Actions are proposed for germoplasm conservation and rational use of this important natural resource. In the second chapter, the objective was to compare and select methods for seed moisture determination. The methods that used intact seeds at 103°C, 105°C and 130°C didn't differ among each other, and showed a higher moisture content, or a tendency to it, than that used ground seeds, with possibilities of its recomendation for the species. In the third chapter, the objective was to establish coloration patterns by the tetrazolium test in order to evaluate the physiological quality of the brazil nut seeds. With the increase in storage time there was a decrease in the moisture content and in the percentage of the kernels with pink color and an increase in the percentage of kernels with white dots, which tended do fill up all the internal section of the kernel. In the fourth chapter, the objective was to characterize the germination and the deterioration in brazil nut kernels during the germinative process throug the use of tetrazolium test. This test, performed with kernels removed from the seedbed revealed different coloration patterns, depending on the state of kernel deteriration. With the storage time there was a decrease in the moisture content percentage of germination and in the kernels with pink color. The germination of brazill nut initiates with the diferentiation of tissues located in the kernel hypodermis and the

deterioration begins with the death of the internal tissues. In the fifth chapter, the objective was to describe anatomic and morphologic aspects of kernels and seedlings of brazil nut, characterizing the tissues responsible for the germinating structures differentiation. The kernel of brazil nut is primarily composed by parenquimatic tissues delimited by a meristematic ring, being these tissues covered by an epidermic layer and a lignified pellicle. The formation of shoot and root root initiates with the diferentiation of pre-existent meristematic tissues preferentially in the epycotil and radicular pole. In the sixth chapter, the objective was to evaluate the effect of different substrates on the growth and mineral composition of brazil nut seedlings. Nine months after transplanting, it was observed significative differences in the seedlings height, basal diameter of the stem, leaf number and dry matter and mineral composition of the dry matter. In the seventh chapter, the objective was to evaluate the *in vitro* behavior of kernel and seedlings explants with regards to its potential for establishment and morphogenesis. Young leaf explants formed callus which were recultured up to five times. Nodal segment and kernel portions were established in different culture media, producing callus and shoots.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) é uma espécie arbórea nativa da região amazônica, que tem sido explorada de forma extrativa, tanto pela sua madeira quanto por suas sementes. Os anos de exploração irracional e predatória deste recurso podem colocar esta espécie em risco de extinção ou de sofrer séria erosão genética.

Estudos visando aprimorar a propagação da castanheira são de grande importância a medida que existe uma tendência de se estimularem a implantação de cultivos racionais e a criação de bancos de germoplasma regionais.

Na área de propagação de plantas, são importantes os conhecimentos básicos sobre a ecologia da espécie e sobre aspectos anatômicos e fisiológicos das sementes e mudas. São ferramentas importantes nesta área de estudo, a análise de sementes e a cultura de tecidos vegetais.

Este trabalho teve o objetivo de ampliar os conhecimentos sobre a propagação da castanheira-do-brasil, reunindo uma série de estudos sobre a ecologia da espécie, avaliações de umidade, deterioração, viabilidade e germinação em sementes, anatomia e morfologia de sementes e plântulas, propagação via cultura de tecidos e sobre o efeito de substratos na produção de mudas.

## 2 CAPÍTULO 1

### **ECOLOGIA DA CASTANHEIRA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.)**

#### **RESUMO**

A Castanheira-do-brasil é uma espécie nativa da Amazônia de grande valor econômico, no entanto poucos estudos tem divulgado sua relação com o meio ambiente. O objetivo deste trabalho é apresentar informações como: importância da espécie, impacto do processo de colonização sobre as formações nativas, descrição botânica, distribuição, polinização, dispersão de sementes, estrutura das populações, implantação de cultivos racionais e preservação de sítios de ocorrência. São propostas medidas para preservação de germoplasma e utilização racional deste importante recurso natural.

#### **ABSTRACT**

### **ECOLOGY OF THE BRAZIL NUT (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.)**

The Brazil nut is a native species of the Amazon. Although it has a great economic value, only few studies have been published dealing with its environment. The objective of this review is to present information regarding its importance, the impact of the colonization process on the maintenance of natural reserves, botanical description, seed dispersal, establishment of rational plantations and preservation of occurrence sites. Actions are proposed for genetic resources conservation and rational use of this important natural resource.

## 2.1 INTRODUÇÃO

A castanheira-do-brasil é uma espécie amazônica com grande valor econômico, quer seja por suas sementes oleaginosas, ricas em aminoácidos essenciais, ou por sua madeira, utilizada principalmente na construção civil. O maior produtor mundial de castanha é o Brasil, sendo que a produção brasileira, baseada no extrativismo, é em quase sua totalidade exportada, tendo variado de 104.482 ton./ano em 1970 até 25.303 ton./ano em 1992 (Figura 1). Segundo Carvalho, Ferreira e Homma (1994), a maior produção extrativa se deu na década de 70 devido à abertura de estradas na região amazônica, passando-se a um decréscimo da atividade extrativa com a expansão da fronteira agrícola.

As amêndoas da castanheira apresentam segundo SUDAM (1976), cerca de 64% de óleo, 14% de proteínas, 3,5% de fibras e 3,3% de cinzas, sendo que a torta obtida após a extração do óleo, apresenta acima de 40% de proteínas, que contém todos os aminoácidos essenciais. A farinha obtida da torta apresenta cerca de 50% de proteínas e pode ser usada, em mistura com a farinha de trigo, na confecção de bolachas e pães. A riqueza das amêndoas em aminoácidos sulfurados, tem levado esta espécie a ser usada pela engenharia genética, como fonte de genes para estudos de melhoramento genético em várias culturas (Guerche et al., 1990, Gander et al., 1991, Aragão et al., 1992.)

Além do valor nutricional, recentes pesquisas de Ip e Lisk (1994, 1994a) demonstraram que a amêndoa da castanheira é uma das fontes naturais mais ricas em selênio, contendo cerca de 13 a 30 ppm deste elemento na forma de selenito de sódio, que é uma substância altamente ativa na prevenção do câncer de mama. No entanto, o conteúdo de selênio

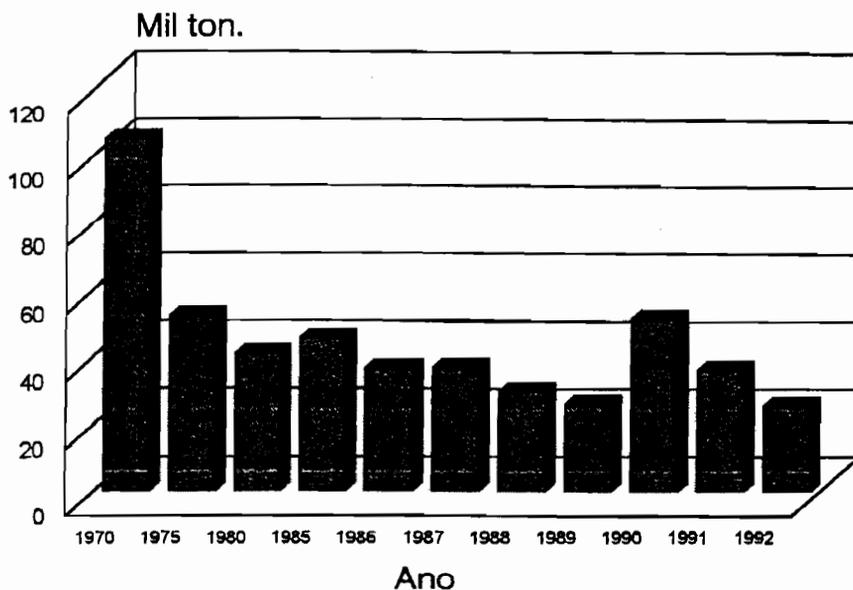


FIGURA 1. Produção brasileira de castanha-do-brasil oriunda de extrativismo em 1.000 ton. Fonte: ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1970/1994.

varia de acordo com a região de origem das amêndoas (Chang et al., 1995).

O avanço no processo de colonização da região amazônica brasileira tem causado grande impacto sobre as populações nativas desta espécie. Camargo e Macedo (1994), observaram o corte indiscriminado de exemplares no norte do estado de Mato Grosso, causando grande perda de material genético, bem como Lescure e Castro (1992) relataram redução na produtividade em áreas de extrativismo. Em Rondônia, Lisboa, Maciel e Prance (1991), indicaram que a castanheira é uma das espécies mais ameaçadas de extinção e erosão genética pelo desmatamento.

Na região de Marabá, estado do Pará, as principais causas de depredação das formações nativas e diminuição da produtividade extrativa, foram o desmatamento e a pecuarização da região, além da deterioração do meio ambiente pelas queimadas, que prejudicavam os insetos polinizadores (Kitamura e Müller, 1984). Segundo Bentes, Marin e Emmi (1988), grande parte dos castanhais na região do Tocantins, estado do Pará, foram dizimados pelas queimadas, formando um “cemitério” de árvores em pé. Estas, gradualmente vão sendo absorvidas pela indústria madeireira, que as comercializa com outro nome, ou são transformadas em carvão.

A legislação florestal brasileira tenta proteger a castanheira do corte, desde a portaria nº 2570-DC do IBDF, de 28 de fevereiro de 1967. O decreto presidencial nº 1282 de 19 de outubro de 1994 no seu artigo 4º, indica claramente a proibição de corte e comercialização de sua madeira, quando originadas de florestas nativas. Recentemente, a portaria do IBAMA nº48 de julho de 1995, que disciplina a exploração de formações florestais na Bacia Amazônica, permite o corte de castanheiras apenas em casos de projetos destinados à realização de obras de relevante interesse público, nestes casos a portaria também permite o corte de árvores mortas ou desvitalizadas, porém somente até o ano 2000. A legislação vigente define como obras de relevante interesse público, aquelas implantadas para fins de colonização, de assentamento de populações, de transporte, de energia e outras assim declaradas pelo órgão competente. No entanto a fiscalização quanto ao cumprimento da lei é dificultada pela falta de recursos públicos e pela grande área de ocorrência da espécie.

O conhecimento da ecologia da castanheira-do-brasil é de grande importância para que se possam propor medidas preservacionistas nas áreas de maior ocorrência, além de se estabelecerem sistemas de cultivo economicamente viáveis e ecologicamente adequados.

O objetivo deste trabalho é apresentar informações sobre a ecologia da castanheira-do-brasil e a importância de sua preservação.

## 2.2 DESCRIÇÃO BOTÂNICA

A castanheira é uma espécie arbórea de grande porte, com copa dominante, fuste reto e cilíndrico, apresentando casca fendilhada de coloração pardo acinzentada (SUDAM 1979) sendo que a altura da planta pode chegar a 50 metros (Mori e Prance, 1990a). Em alguns casos cita-se a bifurcação do fuste entre 3 e 6 metros do solo (Salomão, 1991). Sua madeira é moderadamente pesada ( $0.75 \text{ g/cm}^3$ ), macia ao corte, apresentando cerne castanho-claro levemente rosado, com textura média, grã-direita, com cheiro e gosto imperceptíveis (Mainieri e Peres, 1989). Segundo estes autores, sua madeira demonstrou ser resistente ao ataque de organismos xilófagos, e permeável às soluções preservantes.

Suas folhas apresentam pecíolo de 5 a 6 cm de comprimento, forma de calha, lâmina coriácea de base aguda e margens onduladas, com aproximadamente 25 a 35 cm de comprimento e 8 a 12 cm de largura (Cavalcante, 1976). O mesófilo foliar apresenta menor área, maior número de estômatos, maior espessura e tecido vascular mais desenvolvido nos estratos superiores em relação aos estratos inferiores (Medri e Lleras, 1979).

As inflorescências são do tipo panícula, com eixos compostos por espigas (Mori e Prance, 1983). Segundo Moritz (1984), a constituição floral é zigomórfica, com duas a três sépalas e seis pétalas de cor amarelo creme. O ovário é ínfero contendo 3 a 6 lóculos e 16 a 25 óvulos inseridos na base do septo (Mori e Prance 1990a). O número de cromossomos da espécie, segundo Moritz (1984) é de 34 ( $x=17$ ), sendo que Sanjappa 1979, citado por Mori e Prance (1990a), relatou o número básico de cromossomos  $x=18$ . Os estiletos estendem-se

normalmente até além do ovário e o androceu é zigomórfico, dividido em anel estaminal, lígula e chapéu. Este apresenta forma de elmo, estaminódios com pólen não fértil, e recobre totalmente o anel estaminal.

As flores da castanheira apresentam um leve odor atrativo e o néctar é produzido na base dos estaminódios (Prance, 1976). A espécie apresenta heterostilia, sendo que a presença de estilos curtos está correlacionada com baixos índices de fecundação (Moritz e Ludders, 1993). Na figura 2, apresenta-se fotografia de um corte longitudinal em uma flor de castanheira antes da antese, destacando-se seus principais componentes.

O fruto é do tipo cápsula, denominado pixídio ou ouriço e apresenta pericarpo lenhoso. Segundo Moritz (1984), as sementes estão unidas através do funículo pela coluna central do ovário. Por ocasião da maturação, a placenta se encolhe e puxa o opérculo para dentro, originando um orifício de aproximadamente 1 cm. O ouriço, após a retirada das sementes, é usado para confecção de peças de artesanato ou como combustível, notadamente para defumação da borracha (Müller et al., 1995). O ouriço e o tegumento das sementes equivalem a 88% do peso total do fruto e a parte comestível cerca de 9,4% (Müller, Figueiredo e Carvalho, 1995). Na figura 3, apresenta-se uma fotografia de frutos com suas sementes.

Após a dispersão das sementes, na época de chuvas abundantes, os ouriços vazios proporcionam um habitat aquático temporário, aonde larvas de insetos e de espécies de sapo, desenvolvem relações de predação (Caldwell, 1993). Neste habitat Caldwell (1991) e Caldwell e Myers (1990), descreveram novas espécies de pequenos sapos, respectivamente, *Bufo castaneoticus* e *Dendrobates castaneoticus*.

As sementes apresentam testa lignificada, perisperma com várias camadas de células comprimidas e endosperma reduzido a duas ou três camadas de células (Corner, 1976).

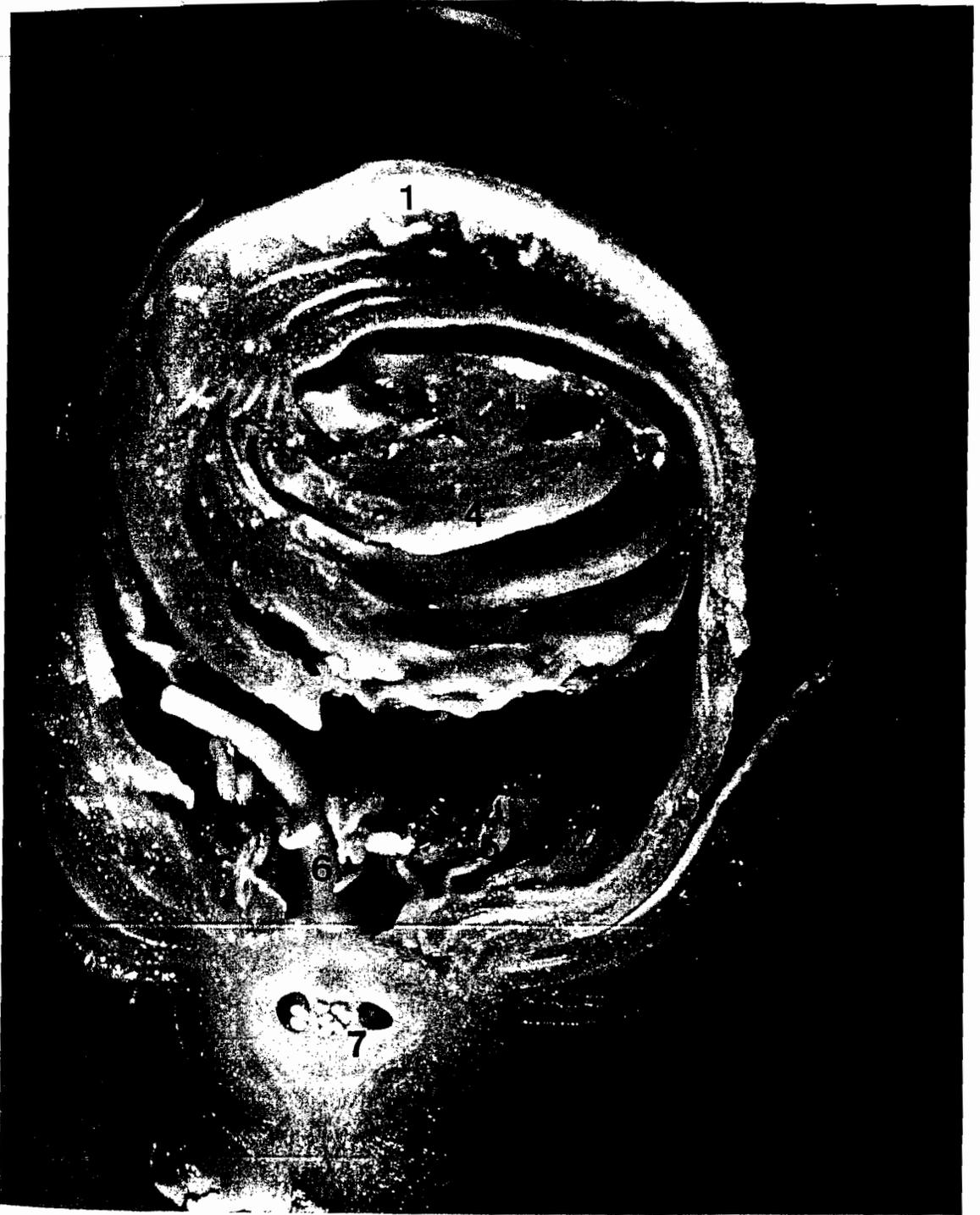


FIGURA 2 - Flor de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) antes da antese, em corte longitudinal. 1- Chapéu, 2- Pétala, 3- Sépala, 4- Estaminódios, 5- Estames, 6- Estilete, 7- Ovário.

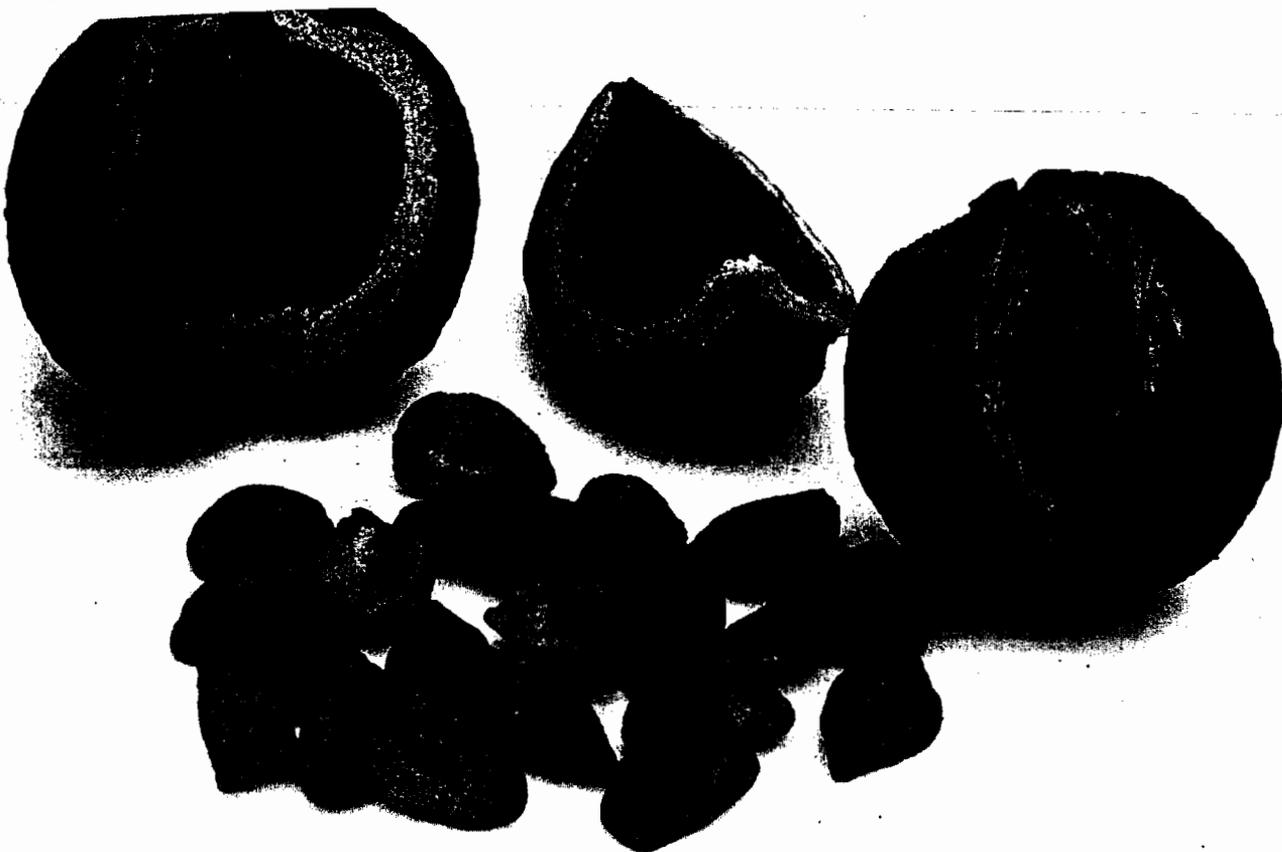


FIGURA 3. Frutos seccionados de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) e suas sementes.

O embrião é do tipo macropodial com cotilédones não diferenciados, sendo sua maior parte composta pelo hipocótilo (Prance e Mori, 1978). Vaughan (1970), descreveu na amêndoa de castanheira a presença de um anel de tecido procambial circundado por células de parênquima e endosperma. Estudo efetuado em Lavras por Camargo, Castro e Gavilanes (1996), demonstrou que a partir destes tecidos hipodérmicos, principalmente nas regiões basal e apical da amêndoa, ocorre a diferenciação das estruturas germinativas.

Müller et al., (1980) relataram que a germinação ocorre naturalmente entre 6 e 18 meses após a sementeira, refletindo a resistência do tegumento à expansão do embrião, havendo ainda desuniformidade quanto à emissão do caulículo e da radícula.

As sementes desta espécie apresentaram comportamento recalcitrante, tendo sua germinação prejudicada quando dessecadas a graus de umidade inferiores a 14% (Figueiredo, Carvalho e Frazão 1980). Em outro estudo, Figueiredo e Carvalho (1994) indicaram que as sementes de castanheira apresenta um comportamento intermediário, em vista de terem sido armazenadas em ambiente frio por até 90 dias, sem que se observasse prejuízos à percentagem de emergência. Embora as sementes de castanheira sejam sensíveis ao dessecação em condições naturais, na época da dispersão, que se dá principalmente entre dezembro e fevereiro, observa-se alta umidade relativa do ar e no solo, dando condições para o início do processo germinativo. Este processo é lento, pois envolve a diferenciação de tecidos meristemáticos do embrião, o que permite que ocorra a liberação das sementes de dentro dos frutos e a perda de resistência do tegumento.

Poucas citações sobre o sistema radicular são encontradas em literatura. Leonardos (1958), ressalta que a castanheira possui sistema radicular gigantesco, podendo as raízes explorarem um volume de solo de cerca de 10 000 m<sup>3</sup>. Segundo Silva e Rosa (1986), a castanheira deve ter um sistema radicular muito profundo, pelo fato de não apresentar sapopemas, que contribuiriam para sua fixação no solo. Estes relatos são confirmados pelo fato de que em áreas desmatadas onde as castanheiras são mantidas em pé isoladas, não se observa com frequência a queda de exemplares pela ação do vento. Silva e Rosa (1986), observaram a presença de brotações diretamente das raízes, quando estas foram submetidas a cortes, durante a construção de uma estrada na região de Carajás.

## 2.3 DISTRIBUIÇÃO E OCORRÊNCIA

A família Lecythidaceae, segundo Mori (1990), é uma das famílias de árvores de planícies, ecologicamente mais importantes em habitats não inundáveis (terra firme), sendo que aquelas espécies de flores zigomórficas, predominam na Amazônia central até as Guianas.

A ocorrência da Castanheira no Brasil é descrita por Almeida (1963), nas regiões de planalto que separam as bacias formadas pelos afluentes do rio Amazonas, principalmente nos altos Moju e Tocantins, estado do Pará, nos vales dos rios Solimões, Madeira, Maués, Purus e Negro, até o vale do Orinoco no estado do Amazonas, nos vales dos rios Papagaio e Juruená no estado de Mato Grosso e na região amazônica do estado do Maranhão.

Segundo Neves (1938), no Brasil as maiores formações compactas desta espécie, estão localizadas nos estados do Pará (rios Trombetas, Tapajós, Xingú, Tocantins e afluentes), Maranhão (região da Amazônia Legal), Mato Grosso (rio Araguaia), Amazonas (rios Amazonas, Madeira, Negro, Purus e afluentes) e Acre (rios Purus, Acre, Laco e Abiunã). Müller (1981), ressalta também sua ocorrência nos antigos territórios do Amapá, Rondônia e Roraima. Esta espécie não está restrita a Amazônia brasileira, apresentando segundo Müller et al., (1980), dispersão natural abrangendo desde o alto Orinoco (5° de latitude norte), até o alto Beni (14° de latitude sul), incluindo-se as regiões amazônicas da Venezuela, Guianas, Colômbia, Peru e Bolívia.

Os levantamentos mais abrangentes da vegetação da Amazônia brasileira, feitos a partir de 1971 pelo projeto RADAMBRASIL deram mais detalhes sobre a fitofisionomia da região. Araújo, Jordy Filho e Fonseca (1986), com base no projeto acima citado, apresentam um mapeamento da ocorrência da castanheira, a partir da análise de 3000 amostras de 1 hectare, avaliando-se árvores com mais de 1 m de diâmetro à altura do peito (DAP). Mori e Prance (1990),

apresentam a distribuição da castanheira em toda a região amazônica. Na figura 4, apresenta-se um mapa de ocorrência da castanheira na região amazônica, com base nos trabalhos acima citados.

A maioria dos levantamentos e estudos apontam a ocorrência desta espécie em regiões de terra firme, de solo profundo, argiloso ou areno argiloso. Mori e Becker (1991), relatam queda de folhas, ataque de insetos e morte de castanheiras em área que sofreu cinco meses de alagamento. Segundo Clement (1993), a castanheira é encontrada principalmente em solos pobres em nutrientes, bem estruturados e bem drenados. Para este autor a riqueza da castanha em selênio esta relacionada à similaridade química entre este elemento e o enxofre, à deficiência dos solos amazônicos em enxofre e à décadas ou séculos de exportação deste elemento pelas sementes, para fora da área dos castanhais.

No estado de Mato Grosso, BRASIL (1984), indica que a castanheira ocorre tanto em formações de floresta ombrófila tropical densa quanto aberta, que são as duas formações florestais mais abundantes da Amazônia brasileira, apresentando segundo Araújo, Jordy Filho e Fonseca (1986), áreas de aproximadamente 3 milhões de Km<sup>2</sup>.

A castanheira concentra-se principalmente em regiões submetidas aos tipos climáticos Aw (Tropical de Savana) e Am (Tropical Monçônico), com temperaturas médias anuais entre 24.3 e 27.2°C, precipitação média de 1400 a 2800 mm anuais, e deficiência hídrica anual entre 15 e 450 mm, evidenciando que a castanheira encontra boas condições de desenvolvimento em clima tropical úmido, notadamente naqueles sujeitos a períodos anuais de relativa estiagem (Diniz e Bastos, 1974).

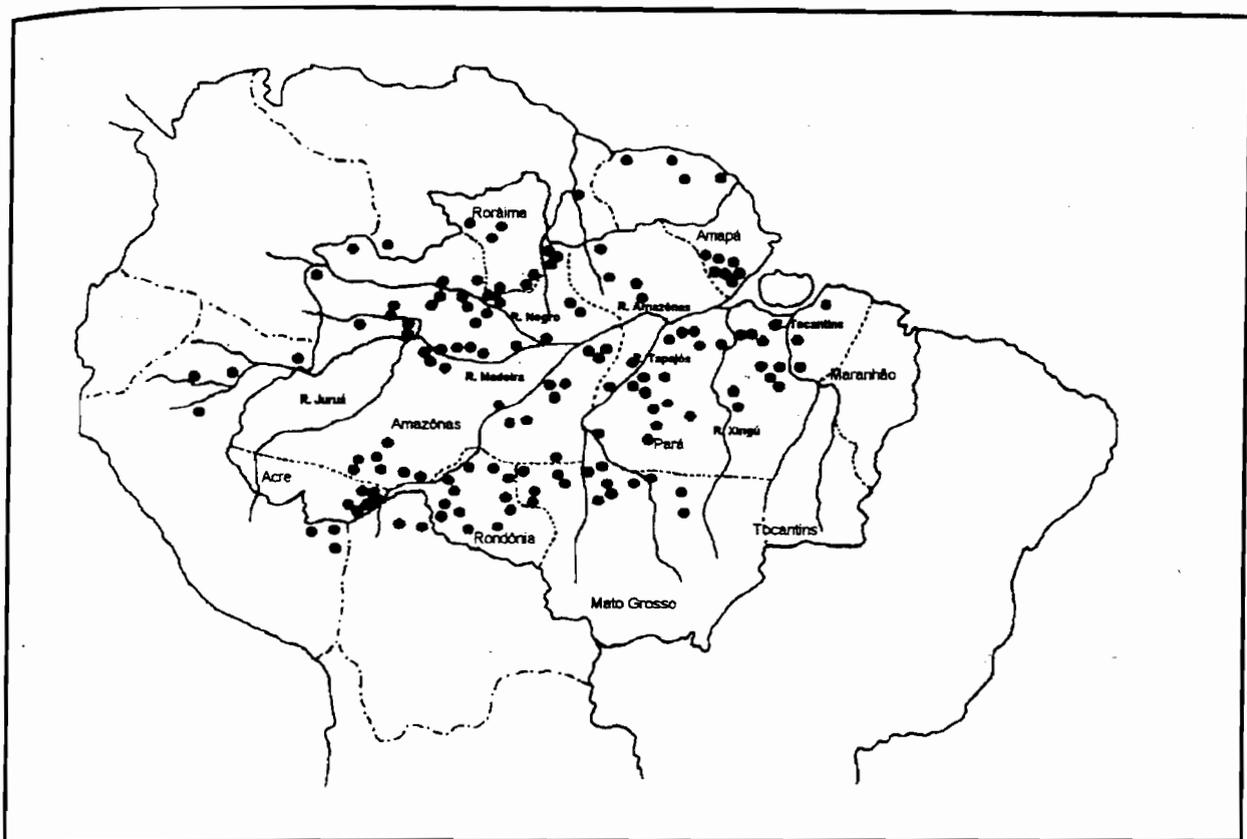


FIGURA 4. Distribuição da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) na região Amazônica. Modificado de Araújo, Jordy Filho e Fonseca (1986) e de Mori e Prance (1990).

## 2.4 FENOLOGIA E POLINIZAÇÃO

A castanheira, em plantios efetuados pelo homem, tem levado cerca de 10 anos para iniciar o florescimento, não se sabendo em condições de regeneração natural qual o tempo necessário para a maturidade reprodutiva. Estima-se que plantas adultas existentes em florestas primárias, sejam seculares, como um exemplar de castanheira com circunferência de 14 metros que teve idade estimada por Pires (1978), em 1400 anos. Através de datação radiocarbônica, Camargo et al., (1994), estimaram a idade de uma castanheira com 2.33 metros de DAP, em  $440 \pm 60$  anos.

O florescimento da castanheira foi registrado por Carvalho (1980), entre outubro e março, com maior concentração em novembro e dezembro. Segundo Moritz, (1984), após o período das chuvas, as folhas começam a cair, aparecendo novo fluxo de brotações logo abaixo dos restos das inflorescências do ano anterior. As folhas, inicialmente de coloração parda e inclinadas para baixo, gradualmente ficam em posição normal e de coloração verde escura. Durante o período de florescimento, um grande número de flores são produzidas diariamente por um período relativamente longo (Mori e Prance, 1990).

Para Almeida (1963), na castanheira ocorre alternância de produção, fenômeno que pode ser causado pelo longo período de frutificação, por volta de 15 meses, com a consequente existência de frutos e flores na mesma planta. Assim em anos com grande produção de frutos, o florescimento e vingamento floral podem ser afetados por um menor estatus nutricional.

As características das flores da castanheira a enquadram na síndrome de polinização denominada melitofilia, que segundo Faegri e Van Der Pijl (1979), se caracteriza pela dependência de abelhas, que são atraídas pelo odor levemente adocicado ou pela coloração das flores, que contém néctar rico em açúcares.

Müller et al., (1980), relataram que a antese da castanheira ocorre entre 4:30 e 5:00 horas e os insetos polinizadores, abelhas solitárias dos gêneros *Bombus*, *Xylocopa* e *Centris*, e em menor escala, *Eulaema* e *Epicharis*, iniciam seu trabalho por volta das 6:00 horas, com 73% de visitação, caindo para 5% a partir das 7:00 horas. A taxa de vingamento floral é em média apenas 0,4%, podendo variar de acordo com a maior ou menor atividade dos polinizadores e fertilidade do solo (Moritz 1984). Nelson et al., (1985), observaram próximo a Manaus, as espécies *Eulaema nigrita*, *E. cingulata*, *Epicharis umbraculata*, *E. rustica* e uma espécie de *Euplusia*, como polinizadoras da castanheira. Estas visitavam cerca de 2 a 5 flores por minuto, coletando

pólen e néctar, sendo que os machos apenas coletavam néctar. A maior oferta de néctar em relação ao pólen como atrativo para o polinizador em algumas espécies de Lecythidaceae, segundo Mori, Prance e Bolten (1978), ajuda a reduzir a competição pelos polinizadores disponíveis.

Prance (1976), cita os principais polinizadores da castanheira como fêmeas de abelhas da sub-família Euglossinae, que pousam sobre a flor e em posição invertida, devido a sua grande força, levantam o chapéu, efetuando forçosamente a polinização com a parte dorsal do tórax. Este mecanismo, com uma estrutura complexa do andróforo, seria um indicativo de uma maior modernidade em termos evolutivos, dentro da família das Lecythidaceae. O chapéu ou capuz fechado sobre a parte superior do ovário, segundo Mori e Prance (1981), tem a finalidade de evitar a entrada de insetos não polinizadores, além de servir de plataforma de pouso e de pressionar o corpo do polinizador contra o anel estaminal e o estigma.

As abelhas solitárias de grande porte, carregam grande quantidade de polén nos pelos espalhados pelo corpo, e necessitam de grande número de visitas para sua saciação e de sua prole (Faegri e Van Der Pijl, 1979). Estas características do polinizador podem ser um indicativo da coevolução das espécies, pois a castanheira necessita, segundo Moritz (1984), de uma alta taxa de polinização e fecundação de óvulos entre 70 e 80%, para que haja vingamento, além de apresentar autoincompatibilidade, exigindo polinização cruzada. Segundo Frankie, Opler e Bawa (1976), a movimentação de abelhas solitárias entre árvores da mesma espécie é maior quanto maior for a agregação dos indivíduos, havendo também efeitos da duração do período de florescimento e da sincronização entre indivíduos.

As populações de abelhas solitárias são frequentemente agrupadas, com nidificação em áreas próximas aos ninhos parentais, sendo a abundância de espécies, relacionada com a existência de recursos alimentares e locais de nidificação adequados, preferencialmente em cavidades pré

existentes em troncos (Maluf, 1993). Os machos apresentam importante papel na polinização de orquídeas (Braga, 1976), dependendo destas para a coleta de odores que vão atrair as fêmeas (Prance, 1983). Estes insetos, segundo Bawa et al., (1985), apresentam maior atividade de polinização em espécies do dossel, onde o risco de predação fica diminuído, tanto por sua grande vigilância e hábito de forrageamento em agregados, quanto pelo seu grande poder de vôo, o que permite eficiente dispersão de pólen. A fragmentação florestal (Powel e Powel, 1987), e as queimadas, (Kitamura e Müller, 1984) tem caracterizado o homem como o principal agente responsável pela diminuição das populações destes insetos, o que pode, a médio e longo prazo, causar prejuízos à disseminação natural das castanheiras .

## 2.5 DISPERSÃO DE SEMENTES

A castanheira apresenta uma dispersão tipicamente zoocórica, onde os principais agentes são mamíferos roedores, principalmente as cutias (*Dasyprocta sp*) e possivelmente as pacas (*Agouti paca*), que são atraídos pelo alto valor nutritivo das sementes.

Na maturação, os frutos caem ao chão retendo as sementes, estas são liberadas, principalmente pelas cutias, que roem o pericarpo lenhoso (Prance e Mori, 1978). As cutias tem hábito de enterrar sementes isoladamente, para posterior alimentação em época de escassez, se tornando um importante agente dispersor de muitas árvores (Emmonds e Feer, 1980). No caso da castanheira, Smith, citado por Mori e Prance (1990), relata que as sementes são coletadas e escondidas longe da planta mãe onde algumas são esquecidas e eventualmente germinam.

A área de vida das cutias poderia ser estimada de acordo com a metodologia adaptada de Turner, Jennich e Weintraub (1969), em aproximadamente 5.5 hectares. Esta seria aproximadamente a área mais efetiva de dispersão das sementes ao redor da planta matriz. Para

Mori (1990a), a indeiscência funcional, a queda dos frutos maduros e a ausência de arilo nas sementes são adaptações para dispersão pelas cutias. Ao mesmo tempo o pericarpo e tegumento lenhosos, protegem as sementes da predação e deterioração, (Mori 1970). Segundo Foster (1987), sementes grandes, por possuírem maiores quantidades de reserva, proporcionam maior taxa de sobrevivência em mudas, principalmente por facilitar a regeneração de tecidos danificados por herbívoros ou danos mecânicos. Em várias regiões da Amazônia brasileira, relatos de agricultores, indicam a predação de sementes imaturas de castanheira por araras e de sementes maduras por macacos.

O longo período necessário para a germinação, a indeiscência funcional e a exigência de agentes dispersores específicos, parecem ser consequência de um processo coevolutivo que dificulta a germinação próxima à planta mãe, possibilitando que as sementes sejam levadas até sítios mais favoráveis para o estabelecimento das plântulas, provavelmente em pequenas clareiras. Segundo Pinã-Rodrigues, Costa e Reis (1990), a regeneração que ocorre em clareiras é proveniente de sementes transportadas por animais ou banco de sementes, sendo os dispersores atraídos a estas áreas pela maior concentração de alimentos.

As cutias tem sofrido grande pressão de caça, estando segundo Brito e Ferreira (1978), entre os 10 principais animais silvestres amazônicos preferidos como alimento em diversos restaurantes da região amazônica, o que pode comprometer a regeneração natural da castanheira, principalmente em áreas sob manejo florestal e em reservas extrativistas.

## 2.6 ESTRUTURA DAS POPULAÇÕES

As matas de terra firme recobrem cerca de 50% da região amazônica, e apresentam fisionomicamente uma paisagem muito uniforme porém com grande diversidade de espécies por unidade de área (Pires, 1974). A estrutura das populações de espécies arbóreas refletem um mosaico de fatores como solos, clima, ocorrência de clareiras, presença de agentes polinizadores, dispersores, predadores de sementes, além de fatores inerentes à própria planta como taxa de crescimento, exigência em luz, sistemas reprodutivos, dormência de sementes entre outros.

As castanheiras ocorrem em matas de terra firme de forma isolada como uma espécie emergente e ocasionalmente ocorrem em formações agregadas denominadas de castanhais (Clement, 1993). Segundo Salomão (1991), os agrupamentos desta espécie tem extensão variável e estão sempre associados a outras espécies florestais de grande porte. Analisando inventários florestais na região amazônica brasileira, o autor acima citado, observou densidades de 1 a 10 plantas por hectare com DAP maior do que 10 cm. Sanchez, citado por Mori e Prance (1990), observou em regiões produtoras no Peru, de uma planta por 6 hectares até cerca de 20 plantas por hectare.

Inventários florestais realizados nos estados brasileiros de Rondônia e Pará (Campbell et al., 1986, Salomão e Lisboa 1988, Salomão 1991), demonstraram que as castanheiras aparecem sempre nas maiores classes de diâmetro. Na região de Marabá, estado do Pará, notadamente uma das mais ricas em castanheiras, Salomão (1991), encontrou maior número de indivíduos com DAP entre 1,4 e 1,5 m, altura entre 35 e 45 m e densidade média de 4,2 árvores por hectare. Observou-se a presença de indivíduos jovens apenas em parcelas localizadas em clareiras, notando-se que o crescimento em altura é extremamente rápido, o que permitiria à castanheira atingir a maior luminosidade do dossel antes do fechamento da clareira.

Segundo Denslow (1980), as clareiras constituem um importante recurso para o estabelecimento de espécies arbóreas em florestas tropicais, variando em tamanho e na frequência temporal e espacial. As clareiras pequenas causadas pela queda de uma árvore ou galhos, seriam mais frequentes do que aquelas grandes formadas pela queda de várias árvores. Para Uhl, Clark e Maquirino (1988), danos mecânicos e estresse são importantes agentes na mortalidade de árvores pequenas, enquanto tempestades frequentemente causam queda de árvores maiores. Estes autores ainda indicaram que na floresta amazônica, clareiras causadas pela queda de árvores, beneficiam principalmente plântulas pré-estabelecidas, permitindo a renovação de espécies de floresta primária.

As Lecithidaceae não colonizam grandes clareiras, sendo a maior parte de suas espécies habitantes de florestas primárias com pouca tendência de invasão de áreas desflorestadas, principalmente após o uso do fogo (Mori, 1990a). Embora a castanheira necessite de clareiras naturais para sua regeneração, não existem dados científicos conclusivos sobre as condições ambientais necessárias para que ela possa crescer e atingir o dossel.

A castanheira poderia ser enquadrada dentro dos grupos ecológicos propostos por Whitmore (1990), como uma espécie clímax exigente em luz. As principais características que a enquadrariam neste grupo seriam a presença de indivíduos adultos em matas primárias com copa emergente, baixa capacidade de dispersão das sementes, dispersão zoocórica, grande quantidade de reservas nas sementes, e crescimento inicial lento com aceleração a partir do aumento da luminosidade.

É possível que esta espécie forme um banco de plântulas, que se desenvolvem a medida que ocorra alguma clareira ou que as sementes sejam levadas pelos dispersores para clareiras pré-formadas e aí se estabeleçam. Segundo Foster (1987), árvores de florestas tropicais

que apresentam sementes grandes, tem maiores chances de crescer sob o dossel da floresta em baixas condições de luminosidade ou de se manter em condições adversas por um longo período de tempo.

A formação agregada desta espécie não pode ser explicada apenas pela teoria de regeneração em clareiras, pois o tamanho dos agregados excede em muito a área influenciada por uma simples clareira (Mori e Prance, 1990). Müller et al., (1980), citam a hipótese de que a castanheira teria sido uma cultura pré-colombiana incorporada a floresta. Whitmore (1990), citou estudos de Balée em área próxima ao rio Xingu, em que a castanheira e outras espécies de valor alimentar teriam sido usadas no enriquecimento da floresta, tanto pela agricultura migratória quanto por grupos de caça. Esta hipótese, segundo Mori e Prance (1990), carece de confirmação científica para a Amazônia como um todo, pois os castanhais estão ausentes em áreas próximas a Manaus densamente habitadas no passado. Clement (1993), ressaltou neste caso, a possibilidade de que os grupos que ocupavam esta área, não achavam a castanha um alimento atrativo.

É possível que as formações agregadas desta espécie sejam causadas pelo próprio hábito dos agentes dispersores que a dispersariam continuamente dentro dos limites de sua área de vida.

## **2.7 IMPLANTAÇÃO DE CULTIVOS RACIONAIS E PRESERVAÇÃO DE SÍTIOS DE OCORRÊNCIA**

A partir da década de setenta o governo brasileiro incentivou a colonização da região amazônica com a abertura de estradas, associadas a projetos de colonização. No entanto estes projetos não apresentavam suporte técnico quanto à exploração dos recursos vegetais existentes na floresta ou quanto aos sistemas de produção agrícola mais indicados para a região. No estado

do Mato Grosso, segundo Camargo e Macedo (1994), e no Pará, Kitamura e Müller (1984), o processo de colonização levou a uma rápida expansão da pecuária na região e à procura de novas áreas.

A preservação dos sítios de ocorrência desta espécie e sua incorporação ao processo produtivo, são medidas de grande importância para a conservação do germoplasma e para proporcionar agroecossistemas mais compatíveis com o ecossistema da região.

O cultivo racional da castanheira visando a produção de sementes se tornou viável após os trabalhos desenvolvidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Müller et al., 1980). O processo de semeadura de amêndoas tratadas com fungicidas, com posterior plantio e enxertia das mudas em local definitivo, proporciona as primeiras florações por volta dos quatro anos e produções regulares a partir dos sete. Maiores informações sobre o sistema de propagação desta espécie podem ser obtidas em Müller (1982) e Moreira (1994). No entanto as características ecológicas desta espécie, condicionam o sucesso dos plantios comerciais a uma série de fatores inerentes ao sistema reprodutivo.

A exigência em agentes polinizadores específicos, indica a necessidade de se proporcionar condições ambientais favoráveis à manutenção de seu nível populacional. Para tal, recomenda-se a manutenção de reservas de mata e de moirões ou troncos secos próximos aos plantios, de forma a proporcionar locais de refúgio e nidificação. O plantio de espécies como o urucueiro (*Bixa orellana* L.), maracujazeiros (*Passiflora* sp.), crotalárias (*Crotalaria* sp.), entre outras, que forneceriam alimento aos polinizadores em épocas em que as castanheiras não estão floridas, é também recomendável.

Devido ao sistema de autoincompatibilidade existente na castanheira, Müller (1981), recomendou a retirada das gemas para a enxertia em pelo menos cinco matrizes diferentes,

proporcionando maior diversidade genética nos cultivos e maior chance de vingamento floral. Deve-se incentivar os trabalhos de identificação e seleção de matrizes de alta produção, facilitando a formação de bancos de germoplasma regionais, que forneceriam gemas para enxertia. A manutenção de exemplares espontâneos próximos aos plantios racionais também é recomendável, no sentido de se aumentar e diversificar a oferta de pólen.

O plantio desta espécie para produção de madeira é uma das opções para se diminuir a pressão sobre as florestas nativas. Plantios experimentais em Curuá-Una no Pará, (SUDAM 1979), demonstraram índice de sobrevivência de 95%, incremento médio anual em altura e diâmetro de respectivamente 98 e 1,25 cm, além de incremento volumétrico de 17,9 m<sup>3</sup> por ha por ano. Sua madeira mostrou boa trabalhabilidade, com acabamento esmerado e índice de aproveitamento de 54,2%. Em Manaus, usando espaçamento de 3 x 3 metros, Fernandes (1991), obteve em povoamento com 10 anos de idade, área basal média de 13,25 m<sup>2</sup> por ha, ótima derrama natural, boa forma de fuste, 70% de sobrevivência e diâmetro e altura máximos de respectivamente 24 cm e 25 m. Segundo Yared et al., (1993), as características silviculturais da castanheira a qualificam como uma das mais promissoras espécies nativas para reflorestamento em áreas abertas na Amazônia, considerando-se as características de crescimento, forma, derrama natural, produção volumétrica, ausência de problemas fitossanitários e ampla base genética para o estabelecimento das plantações.

Os sistemas de plantio a serem adotados, devem, à medida do possível, manter uma maior diversidade de espécies perenes, além de possibilitar o consórcio com culturas anuais ou pastagens, como os sistemas agroflorestais. Outra opção de uso seria através do enriquecimento de capoeiras e do plantio em clareiras naturais em áreas de reserva extrativista. Nestas áreas,

notadamente no estado do Acre, a castanheira já ocupa lugar de destaque como fonte de renda para as comunidades rurais.

O monocultivo desta espécie em grandes áreas, pode contribuir para o aparecimento de doenças de caráter epidêmico, como ressaltam Albuquerque, Duarte e Manço (1974), que identificaram o fungo *Phitophthora heveae* causando danos às folhas. Outro fungo, do gênero *Coletotrichum*, foi identificado por Andrade e Cardoso (1984), em mudas na fase de viveiro. Insetos associados à castanheira podem vir a se tornar uma praga devido a um desequilíbrio ambiental, como descreveu Candia (1973). Este autor citou o ataque de uma lagarta (*Lasura altrix* Stoll), em castanheiras localizadas em uma área de 2500 Km<sup>2</sup> no norte da Bolívia, com danos às folhas, ramos novos e pedúnculo dos frutos. Na área em estudo, chegou-se a observar 50% das árvores completamente atacadas, com ausência total de produção.

A preservação de castanhais, principalmente em áreas de expansão de fronteira agrícola, deve ser priorizada no sentido de se manter o germoplasma existente “in situ” a baixo custo, além de proporcionar áreas de refúgio e alimentação para os animais silvestres. Segundo Silva, Leite e Gripp (1986/1987), a castanheira é uma espécie considerada de alta prioridade para conservação da diversidade genética, entre outros fatores por ser uma espécie de gênero monoespecífico.

A preservação da diversidade das espécies de Lecythidaceae, deve dar atenção especial à proteção de grandes extensões de matas de terra firme, onde se desenvolvem o maior número de espécies (Mori, 1990). Áreas grandes, longe de influência antrópica e com significativa ocorrência de castanhais devem ser mapeadas e priorizadas para a criação de unidades de conservação e parques nacionais. Estas áreas proporcionariam campo para estudos ecológicos a

longo prazo, possibilitando maiores conhecimentos sobre a interdependência da castanheira com os outros componentes do ecossistema.

A formação de centros comunitários, associações ou cooperativas para o beneficiamento e comercialização de castanha, proporcionariam maior renda aos pequenos produtores, diminuindo a pressão de corte sobre os castanhais nativos, a necessidade de expansão da fronteira agrícola e a crescente expansão da pecuária da região amazônica.

## 2.8 CONCLUSÕES

A castanheira é uma espécie de grande importância para o ecossistema amazônico, apresentando grande especificidade quanto aos agentes polinizadores, dispersores e quanto às exigências para regeneração natural. Deve ser encarada como uma espécie prioritária para preservação de germoplasma, devido à riqueza nutricional de suas sementes e o grande potencial para uso na composição de agroecossistemas por pequenos produtores da região amazônica.

A pesquisa com a espécie, deve ser voltada para estudos ecológicos e preservação de germoplasma "in situ" em áreas com grande ocorrência de castanhais, devendo-se incentivar a seleção de matrizes de alta qualidade para o fornecimento de material para propagação. O sistema de propagação vegetativa deve ser aprimorado, inclusive com o uso de técnicas de propagação *in vitro*, que facilitarão a criação de bancos de germoplasma regionais. O cultivo racional desta espécie envolve a manutenção da diversidade genética dos plantios e da qualidade ambiental, que é expressa neste caso, pela presença dos insetos polinizadores.

Medidas para se viabilizar a fiscalização quanto ao corte, para se socializar o uso das sementes na alimentação, para se estimular a agroindústria e o associativismo entre pequenos produtores na região amazônica, podem ajudar na preservação da castanheira e na ampliação dos plantios.

## 2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F.C.; DUARTE, M.L.R. ; MANÇO, G.R. Requeima das folhas da Castanheira do Pará (*Bertholletia excelsa*) causada por *Phytophthora heveae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.9, n.10, p.101-105, 1974.
- ALMEIDA, C.P. **Castanha do Pará. Sua importância na economia amazônica**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola, 1963. 85p. (Estudos Brasileiros,19).
- ANDRADE, J.D. de ; CARDOSO, J.D. Caracterização de uma doença fúngica na Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Acta Amazônica**, Manaus, v.14, n.1/2, p.3-8, 1984.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro: FIBGE, 1986/1994. v. 46-53.
- ARAGÃO, F. J. L. ; SA, M. F. G. de ; ALMEIDA, E. R. ; GANDER, E. S. ; RECH, E. L. Particle bombardment-mediated transient expression of a Brazil nut methionine-rich albumin in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Molecular Biology**: Dordrech. v.20, n.2, p.357-359, 1992.
- ARAÚJO, A.P. de ; JORDY FILHO, S. ; FONSECA, W.N. A vegetação da amazônia brasileira. In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1, Belém, 1984. **Anais...** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. v.2, p.135-268.
- BAWA, K.S.; BULLOCK, S.H.; PERRY, D.R.; COVILLE, R.E. ; GRAYUM, J.H. Reproductive biology of tropical rainforest trees. II. Pollination systems. **American Journal of Botany**, Columbus, v.72, n.3, p.346-356, 1985.
- BENTES,R. da S.; MARIN, R.A. ; EMMI, M.F. Os cemitérios das castanheiras do Tocantins. **Pará desenvolvimento e meio ambiente**, Belém, n.23, p.18-23, 1988.
- BRAGA, P.I.S. Estudo da flora orquidológica do estado do Amazonas. Descrição e observação da biologia floral de *Stanhopea candida* Barb. Rodr. **Acta Amazônica**, Manaus, v.6, n.4, p.433-438, 1976.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. **Diagnóstico do setor florestal do estado de Mato Grosso**. Brasília: IBDF, 1984. 354p.
- BRITO, W.L. ; FERREIRA, M. Fauna brasileira preferida como alimento, uma análise regional. **Brasil Florestal**, Rio de Janeiro, v.9, n.35, p.11-17, 1978.
- CALDWELL, J. P. Brazil nut fruit capsules as phytotelmata: interactions among anuran and insect larvae. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 71, n. 6, p.1193-1201, 1993.
- CALDWELL, J. P. A new species of toad in the genus *Bufo* from para, brazil, with an unusual breeding site. **Papeis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, v. 37, n.26, p.389-400, 1991.
- CALDWELL, J. P. ; MYERS, C. W. A new poison frog from amazonian brazil, with further revision of the *quinquevittatus* group of *Dendrobates*. **American Museum Novitates**, New York, n. 2988, p. 1-21, 1990.
- CAMARGO, I.P. de; CASTRO, E.M. de ; GAVILANES, M.L. Aspectos da morfologia e anatomia de plântulas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 27, Nova Friburgo, 1996. **Anais...** Nova Friburgo: Sociedade Botânica do Brasil, 1996. p.270-271.
- CAMARGO, I.P. de; MACEDO, R.L.G. Alta Floresta, MT. Situação atual e perspectivas de desenvolvimento sustentável. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 1., Porto Velho, 1994. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPq, 1994. v.2, p.65-70.
- CAMARGO, P.B. ; SALOMÃO, R de P. ; TRUMBORE, S. ; MARTINELLI, L.A. How old are large Brazil nut trees (*Bertholletia excelsa*) in the Amazon ? **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.51, n.2, p.389-391, 1994.
- CAMPBELL, D. G. ; DALY, D. C. ; PRANCE, G. T ; MACIEL, U. N. Quantitative inventory of terra firme and várzea tropical forest on the Rio Xingu, brasilian amazon. **Brittonia**, New York, v.38, n. 4, p. 369-393. 1986.

CANDIA, J. D. El desfoliado del castaño en la Hylea Amazonica. **Fitotecnia Latinoamericana**. Caracas, v.9, n.1, p.63-66. 1973.

CARVALHO, J.O.P. de C. **Fenologia de espécies florestais de potencial econômico que ocorrem na floresta nacional do Tapajós**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1980. 15p.(Boletim de pesquisa, 20).

CARVALHO, R. de A. ; FERREIRA, C.A.P. ; HOMMA, A.K.O. **Fontes de crescimento das exportações de castanha-do-brasil (1970-1988)**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1994. 27p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 76).

CAVALCANTE, P.B. **Frutos comestíveis da amazônia: III**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1976. 76p.

CHANG J.C. ; GUTENMANN W.H. ; REID C.M. ; LISK, D.J. Selenium content of brasil nuts from two geographic locations in brazil. **Chemosphere**, London, v. 30, n.4, p.:801-802, 1995.

CLEMENT, C.R. Brazil nut. In: CLAY, J.W. ; CLEMENT, C.R. **Selected species and strategies to enhance income generation from amazonian forests**. Rome: FAO, 1993. p.115-127.

CORNER, E.J.H. **The seeds of dycotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. v.1, 552p.

DENSLOW, J.S. Gap partitioning among trópical rainforest trees. **Biotrópica**, St. Louis, v.12, n.2, p.47-55,1980.

DINIZ, T.D. ; BASTOS, T.X. Contribuição ao conhecimento do clima típico da Castanha-do-Brasil. **Boletim técnico do IPEAN**, Belém, n.64, p.59-71, 1974.

EMMONDS, L.H. ; FEER, F. **Neotropical rainforest mammals**. Chicago: Chicago University Press, 1980. 281 p.

FAEGRI, K. ; VAN DER PIJL, L. **The principles of polination ecology**. London: Pergamont Press., 1979. 244p.

- FERNANDES, N.P. Aspectos silviculturais de *Bertholletia excelsa* H.B.K. Castanha-do-Brasil em plantios experimentais. In: Universidade Federal do Paraná. **O desafio das florestas neotropicais**. Curitiba, 1991. p.369.
- FIGUEIREDO, F.J.C. ; CARVALHO J.E.U. de. **Avaliação de características recalcitrantes de sementes de Castanha-do-Brasil**. Belém. EMBRAPA-CPATU, 1994. 17p. (Boletim de pesquisa 154).
- FIGUEIREDO, F.J.C. ; CARVALHO J.E.U. de ; FRAZÃO, D.A.C. **Nível crítico de umidade e seus efeitos sobre a emergência de plântulas de Castanha-do-Brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1990. 17p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de pesquisa 113).
- FOSTER, S.A. On the adaptative value of large seeds for tropical moist forest trees: a review and synthesis. **The Botanical Review**, New York, v.52, n.3, p.260-299. 1987.
- FRANKIE, G. W. ; OPLER, P. A. ; BAWA, K. S. Foraging behaviour of solitary bees implications for autcrossing of a neotropical forest tree species. **Journal of Ecology**, Oxford, v.64, n.3, p.1049-1057, 1976.
- GANDER, E. S. ; HOLMSTROEM, K. O. ; PAIVA, G. R. D ; CASTRO, L. A. ; B. D. ; CARNEIRO, M. ; SA, M. F. G. de. Isolation, characterization and expression of a gene coding for a 2S albumin from *Bertholletia excelsa* (Brazil nut). **Plant Molecular Biology**, Dordrech, v.16, n.3, p. 437-448. 1991.
- GUERCHE, P. ; ALMEIDA, E. R. P. de ; SCHWARZTEIN, M. A ; GANDER, E. ; KREBBERS, E. ; PELLETIER, G. Expression of the 2S albumin from *Bertholletia excelsa* in *Brassica napus*. **Molecular & General Genetics**, New York, v.221, n.3, p.306-314. 1990.
- IP, C. ; LISK, D. J. Bioactivity of selenium from Brazil nut for cancer prevention and selenoenzyme maintenance. **Nutrition and Cancer**, Philadelphia, v.21, n.3, p.203-212. 1994a.
- IP, C. ; LISK, D. J. Characterization of tissue selenium profiles and anticarcinogenic responses in rats fed natural sources of selenium-rich products. **Carcinogenesis**, Oxford, v.15, n.4, p. 573-576, 1994.

- KITAMURA, P.C. ; MULLER, C.H.M. **Castanhais nativos de Marabá-PA : Fatores de depredação e bases para sua conservação**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984. 32p. (EMBRAPA-CPATU .Documentos, 30).
- LEONARDOS, O. Sobre a radioatividade da Castanha-do-Pará. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.30, n.4, p.601-602, 1958.
- LESCURE, J.P. ; CASTRO, E.A.de. L'extrativisme en amazonie centrale. **Bois et Forêts des Tropiques**, Paris, n.231, p. 35-51, 1992.
- LISBOA, P. L. B. ; MACIEL, U. N. ; PRANCE, G. T. Some effects of colonization on the tropical flora of Amazonia: A case study from Rondonia. **Kew Bulletin**, London, v. 46, n. 2, p. 187-204, 1991.
- MAINIERI, C. ; PERES, J. **Fichas de características das madeiras brasileiras**. 2º ed. São Paulo. Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1989. 420p.
- MALUF, R.P. **Biologia de vespas e abelhas solitárias em ninhos armadilha em Viçosa-MG**. Viçosa: UFV,1993. 87p. (Dissertação Mestrado em Biologia)
- MEDRI, M.E. ; LLERAS, E. Ecofisiologia de plantas da amazônia. Anatomia foliar e ecofisiologia de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Castanha -do-Pará) - Lecythidaceae. **Acta Amazônica**, Manaus, v.9, n.1, p.15-23, 1979.
- MOREIRA, P. **Recomendações técnicas para produção de mudas de Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* HBK)**. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF/Acre, 1994. 25p. (EMBRAPA-CPAF/Acre. Documentos 18).
- MORI, S.A. The ecology and uses of the species of *Lecythis* in Central América. **Turrialba**, San José, v.20, n.3, p. 344-349, jul. set. 1970.
- MORI, S.A. Diversificação e conservação das Lecythidaceae neotropicais. **Acta Botânica Brasileira** Porto Alegre, v.4, n.1, p.45-68, 1990

- MORI, S.A. Diversity of Lecythidaceae in the Guianas. In: HOLM-NIELSEN, L.B. ;NIELSEN, I.C. ; BASLEV, V.H. **Tropical Forests, Botanical, Dynamics Speciation and Diversity**. London: Academic Press, 1990a. p.319-332.
- MORI, S.A. ; BECKER, P. Flooding affects survival of Lecythidaceae in terra firme forest near Manaus, Brazil. **Biotropica**, St. Louis, v.23, n.1, p.87-90, 1991.
- MORI, S.A. ; PRANCE, G.T. **Flora Neotropica. Lecythidaceae-Part II**. Nova York, New York Botanical Garden. 1990a. 125p. (Monograph 21, II)
- MORI, S.A. ; PRANCE, G.T. **Lecitidáceas: a família da castanha-do-pará**. Ilhéus: CEPLAC, 1983. 35p. (CEPLAC. Boletim técnico 116)
- MORI, S.A. ; PRANCE, G.T. Relações entre a classificação genérica de Lecythidaceae do novo mundo e seus polinizadores e dispersores. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.4, p.31-37. 1981.
- MORI, S.A. ; PRANCE, G.T. Taxonomy, ecology and economic botany of the Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* Humb. ; Bonpl.: Lecythidaceae). **Advances in Economic Botany**, Nova York, v.8, p.130-150, 1990
- MORI, S.A. ; PRANCE, G.T. ; BOLTEN, A. B. Additional notes on the floral biology of neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, New York, v.30, n.2, p.113-130. 1978.
- MORITZ, A. **Estudos biológicos da floração e frutificação da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984. 82p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos 19)
- MORITZ, A. ; LUDDERS, P. Flower biology, natural pollination and evaluation of brazil nut mother clones (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.). **Angewandte-botanik**, Berlin, v. 67, n. 1-2, 47-51; 1993
- MÜLLER, C.H. **Castanha-do-Brasil, estudos agronômicos**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1981. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos 1)

- MÜLLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em Castanheira-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40P.( EMBRAPA-CPATU. Documentos 16).
- MÜLLER, C.H. ; CALZAVARA, B.B.G. Castanha-do-Brasil, conhecimentos atuais. In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO HÚMIDO. 1, Belém, 1984. **Anais...**Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. v.4, p. 223-229.
- MÜLLER, C.H. ; FIGUEIREDO, F. J. C. ; CARVALHO, J. E. U. de. **Características comparativas entre frutos e sementes de castanheira-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1995. (EMBRAPA-CPATU. Documentos 82).
- MÜLLER, C.H. ; FIGUEIREDO, F. J. C. ; KATO, A. K. ; CARVALHO, J. E. U. ; STEIN, R. L. B. ; SILVA, A. de B. A cultura da castanha-do-brasil. Brasília, EMBRAPA-SPI, 1995. 65p.
- MÜLLER, C.H. ; RODRIGUES, I.A. ; MÜLLER, A.A. ; MÜLLER, N.R.M. **Castanha-do-Brasil. Resultados de pesquisa**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1980. 25p. (Miscelânea 2)
- NELSON, B. W. ; ABSY, M. L. ; BARBOSA, E. M. ; PRANCE, G. T. Observations on flowers visitors to *Bertholletia excelsa* H.B.K. and *Couratari tenuicarpa* A.C. SM. (Lecythidaceae). **Acta Amazônica**. Manaus, v.15, n.1-2, p.225-234. 1985.
- NEVES, C.A.das. A castanheira-do-Pará. **Revista de Agricultura**. Piracicaba, v.13, n.10/12, p.463-476, 1938.
- PINÃ-RODRIGUES, F.C.M.; COSTA, L.G.S.; REIS, A. Estratégias de estabelecimento de espécies arbóreas e o manejo de florestas tropicais. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, 1990. **Anais...**Campos do Jordão: SBS-SBEF, 1990. v.2 , p.676-684.
- PIRES, J.M. The forest ecosystem of the Brazilian Amazon: description, functioning and research needs. In: UNESCO. **Tropical forest ecosystem**. Vendôme, 1978. p.607-627.
- PIRES, J.M. Tipos de vegetação da amazônia. **Brasil Florestal**. Rio de Janeiro, v.5, n.17, p.48-58, 1974.

- POWELL, A.H. ; POWELL, G.V.N. Populatin dynamics of male euglossine bees in amazoniam forests fragments. **Biotrópica**, St. Louis, v.19, n.2, p.176-179, jun. 1987
- PRANCE, G.T. Implicações para a conservação da polinização da Castanha-do-Brasil e espécies aliadas. **Ciência e Cultura**, Rio de Janeiro, v.35, n.7, p.752, 1983. (suplemento).
- PRANCE, G.T. The polination and androphore structure of some amazonian Lecythidaceae. **Biotrópica**, St. Louis, v.8, n.4, p. 235-241, dec. 1976.
- PRANCE, G.T. ; MORI, S.A. Observations on the fruits and seeds of neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, New York, v.30, p.21-33, 1978
- SA, M. F. G. de ; WEINBERG, D. F. ; RECH, E. L. ; BARROS, L. M. G. ; ARAGÃO, F. J. L. ; HOLMSTROEM, K. O. ; GANDER, E. S. Functional studies on a seed-specific promoter from a Brazil nut 2S gene. **Plant Science**, Elsevier, v.103, n.2, p.189-198, oct. 1994
- SALOMÃO, R. de P. Estrutura e densidade de *Bertholletia excelsa* H ; B (Castanheira), nas regiões de Carajás e Marabá, estado do Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, Belém, v.7, n.1, p.47-68, 1991.
- SALOMÃO, R. de P. ; LISBOA, P.L.B. Análise ecológica da vegetação de uma floresta pluvial tropical de terra firme, Rondônia. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**. Belém, v.4, n.2, p.195-233, 1988.
- SILVA, J.A. da. ; LEITE, E.J. ; GRIPP, A. Estratégia para conservação genética de espécies florestais prioritárias na amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, v.16/17, p.535-548, 1986/1987.
- SILVA, M.F.F da. ; ROSA N. de A. Estudos botânicos na área do projeto de ferro Carajás, Serra Norte, Pará. II. Regeneração de "Castanheira" em mata primária na bacia do Itacaiúnas. In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO HÚMIDO, 1, Belém, 1984. **Anais...** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. v.2, p.167-170.

- SILVA, M.F.F. da; ROSA, N.R. ; OLIVEIRA, J. Estudos botânicos na área do projeto de ferro carajás. 5. Aspectos florísticos da mata do rio gelado, Pará. **Boletim do Mus. Par. Emílio Goeldi**. Belém, v.3, n.1, p.1-20, 1987.
- SUPERINTENDÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA. **Estudos e pesquisas sobre a castanha-do-Pará**. Belém: SUDAM. 1976.100p.
- SUPERINTENDÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA. **Pesquisas e informações sobre espécies florestais da amazônia**. Belém :SUDAM. 1979.111p.
- TURNER, F.B.; JENNICH, R.I. ; WEINTRAUB. J.P. Home range and body size of lizards. **Ecology**, Durham, v.50, n.6, p.1076-1081, 1969.
- UHL, C. ; CLARK, K. ; MAQUIRINO, P. Vegetation dynamics in amazonian treefall gaps. **Ecology**, Durham, v.69, n.3, p.751-763, 1988.
- VAUGHAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds**. London: Chapman & Hall Ltd., 1970. 279p.
- WHITMORE, T.C. **An Introduction to Tropical Rain Forest**. Nova York: Oxford University Press, 1990. 226p.
- YARED, J.A.G.; KANASHIRO, M.; VIANA, L.M.; CASTRO, T.C.A. de; PANTOJA, J.R. de S. Comportamento silvicultural de castanheira (*Bertholletia excelsa* H. B.), em diversos locais na Amazônia. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7, Curitiba, 1993. **Anais...Curitiba: SBS-SBEF,1993. v.2, p.416-418.**

### **3 CAPÍTULO 2**

## **COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DO GRAU DE UMIDADE EM SEMENTES DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL**

### **RESUMO**

A determinação do grau de umidade em sementes de castanheira-do-brasil é uma medida essencial na recomendação de uso ou descarte de lotes, devido a sua sensibilidade ao dessecamento. O objetivo do presente trabalho foi comparar e selecionar métodos para a determinação do grau de umidade em sementes de castanheira. No primeiro experimento, a umidade foi avaliada através dos métodos de estufa: 105°C por 24 horas, 103°C por 17 horas com sementes inteiras e moídas e 130°C por 1 hora com sementes inteiras e moídas. As sementes foram submetidas a diferentes pré-tratamentos: (1) embebição em água por 72 horas e (2) por 48 horas, (3) mantidas em condição ambiental e (4) manutenção em câmara seca e fria por 300 horas. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial com 4 repetições de 20 gramas de amêndoas. Os métodos que envolveram a utilização de sementes inteiras a 103°C, 105°C e a 130°C não diferiram entre si e detectaram graus de umidade superiores ou com tendência à superioridade àqueles cujas sementes foram moídas, existindo possibilidades de sua recomendação para esta espécie. No segundo experimento sementes recém coletadas e submetidas a desidratação em estufa por 24 horas a 30°C, foram submetidas a determinação de umidade pelos métodos de estufa sem moagem, utilizando-se

20 repetições de uma amêndoa cada. Os valores médios de umidade determinados pelos diferentes métodos nos dois lotes de sementes, não diferiram entre si. O lote submetido a secagem em estufa apresentou em média umidade 31% menor.

## ABSTRACT

### COMPARISON OF MOISTURE CONTENT EVALUATION METHODS IN BRAZIL NUT SEEDS

The determination of the moisture content in Brazil nut seeds is important for the recommendation for their use or discard, due to their recalcitrant behavior. The objective of this work was to compare and select methods for moisture content evaluation in Brazil nut seeds. In the first experiment the moisture content was evaluated by oven drying methods: Intact seeds at 105°C for 24 hours, and 103°C for 17 hours, intact and ground seeds at 130°C for 1 hour. The seeds were submitted to the following different treatments prior to the moisture content determination: (1) imbibition in water for 72 and (2) 48 hours, (3) natural condition and (4) dry and cold chamber for 300 hours. The used experimental design was completely randomized in a factorial scheme with four replications. The methods that used intact seeds at 103°C, 105°C and at 130°C didn't differ among themselves, and showed a tendency to present a greater moisture content than when ground seeds were used, with possibilities for its recommendation for this species. In the second experiment fresh and dehydrated seeds maintained 24 hours at 30°C were submitted to moisture determination by oven drying methods with intact seeds, using 20 replications of one kernel each. The moisture content determined by the different methods in both seed lots didn't

differ among each other. The lot submitted to prior dehydration showed a 31% lower moisture content.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A castanheira-do-brasil é uma espécie nativa da região amazônica com grande potencial de exploração econômica. Uma das maiores dificuldades na propagação da espécie é a baixa capacidade de conservação da viabilidade das sementes. Segundo Figueiredo, Carvalho e Frazão (1990), as sementes de castanheira tem comportamento recalcitrante, e quando secas a níveis inferiores a 14 % de umidade, podem apresentar danos à qualidade fisiológica e emergência de plântulas. Em vista desta característica, a determinação rápida e eficiente do grau de umidade de um lote de sementes pode dar informações precisas quanto ao seu uso ou descarte para a produção de mudas.

Dentre os métodos utilizados na determinação do teor de água em sementes, destacam-se os métodos diretos, que segundo Carvalho (1994), consistem na remoção e quantificação da água contida na semente, como o método de estufa, que se baseia no cálculo de peso perdido. Segundo Tillman (1993), o método de estufa não apresenta a mesma precisão para todas as espécies, mas pode ser utilizado para qualquer espécie de semente em uma ampla faixa de umidade, fornecendo resultados reproduzíveis entre laboratórios.

Vários métodos vem sendo utilizados para a determinação da umidade em sementes de castanheira: Ayerst e Budd (1960) utilizaram método à vácuo com temperatura de 98°C , SUDAM (1976) utilizou sementes moídas e secas a 110°C por 12 horas, sendo que Reis (1976), Figueiredo, Carvalho e Frazão (1990), Figueiredo e Carvalho (1990) e Figueiredo et al. (1990)

utilizaram o método de estufa a 105°C por 24 horas. Na maioria dos casos, os autores retiram o tegumento lenhoso das sementes e utilizam as amêndoas para as determinações de umidade.

As regras oficiais para análise de sementes no Brasil, RAS (BRASIL, 1992), prescrevem três métodos de estufa, a 105°C por 24 horas, a 103°C por 17 horas com sementes inteiras e moídas e a 130°C por uma hora com sementes inteiras e moídas. No entanto as regras não especificam qual a metodologia mais recomendada para esta espécie. Segundo Oliveira, Piña-Rodrigues e Figliolia (1989), as espécies florestais nativas representam menos de 0,1% das RAS, sendo que para as determinações de umidade no caso de sementes grandes, persistem dúvidas se o tempo de 24 horas a 105°C seria suficiente para estimar-se a perda d'água sem que se provoque oxidação e volatilização de compostos químicos bem como se as sementes deveriam ser utilizadas inteiras.

O objetivo do presente trabalho foi comparar e selecionar métodos adequados para a determinação do grau de umidade em sementes de Castanheira-do-Brasil.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram instalados no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) da Universidade Federal de Lavras, em janeiro de 1995 e dezembro de 1995. Foram utilizadas sementes de Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.), oriundas do município de Paranaitá, norte do estado de Mato Grosso, coletadas em dezembro de 1994 e 1995. No primeiro experimento, as sementes foram mantidas por 45 dias em saco de aniagem em ambiente do LAS e posteriormente submetidas a diferentes pré-tratamentos para obtenção de teores de água diferenciados: 1 - embebição em água por 48 horas em temperatura ambiente, 2 - embebição em água por 72 horas em temperatura ambiente, 3 - manutenção em condição ambiental de

laboratório, 4 - manutenção em câmara seca e fria a  $10^{\circ}\text{C} \pm 2$  e 50% de umidade relativa por 300 horas. Após os pré-tratamentos as sementes foram prensadas em prensa manual para a retirada do tegumento, sendo descartadas as amêndoas trincadas ou danificadas.

Foram utilizados os métodos de estufa preconizados pelas RAS, a  $105^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, a  $103^{\circ}\text{C}$  por 17 horas com amêndoas inteiras e moídas e a  $130^{\circ}\text{C}$  por 1 hora com amêndoas inteiras e moídas. As determinações de umidade foram efetuadas em estufa do tipo convecção gravitacional, sendo avaliado o grau de umidade das amêndoas pela diferença entre peso úmido e peso seco. A moagem das amêndoas foi efetuada em moinho elétrico para moagem de sementes modelo TE-345 por aproximadamente 20 segundos, tempo suficiente para obtenção de textura homogênea, sem provocar aquecimento excessivo das sub-amostras de trabalho. As amostras foram mantidas em recipientes de alumínio com aproximadamente 0.5 mm de espessura, 50 mm de altura e área basal de  $20\text{ cm}^2$ .

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial constando de quatro graus de umidade diferenciados, obtidos pelos pré-tratamentos e cinco métodos de determinação do teor de água. Foram adotadas quatro repetições, sendo as parcelas ou sub-amostras compostas por quatro amêndoas ou aproximadamente 20 gramas.

No segundo experimento, sementes colhidas em 1995 foram mantidas por 15 dias em sacos de aniagem em condições ambientais do LAS e separadas em dois lotes, sendo um destes submetido a desidratação em estufa de ventilação forçada a  $30^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. As determinações de umidade foram efetuadas em cada lote pelos métodos de estufa descritos anteriormente, porém sem moagem das amêndoas. Foram adotadas 20 repetições de uma amêndoa cada, efetuando-se seleção visual de forma a utilizar amêndoas com tamanho aproximado.

Os valores de umidade, foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variâncias, análise de variância pelo teste F ao nível de 1 e 5%, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pré-tratamentos proporcionaram diferenças significativas de umidade nas amêndoas (Tabela 1), independente do método de determinação utilizado. Foram observados ganhos médios de respectivamente 3,7 e 5,0% de água para os períodos de 48 e 72 horas de embebição em relação à condição ambiental e perda de 4,4% de água para o período de 300 horas em câmara seca. O ganho de 3,7% de água durante o período de embebição, confirma a ausência de resistência mecânica do tegumento da semente à absorção de água pela amêndoa, relatada por Moraes e Muller (1978). Em igual período de embebição, Figueiredo, Carvalho e Frazão (1990), obtiveram ganhos de 2% de água, porém em amêndoas com umidade original de 12,2%, superior aos 8,9% observados neste trabalho, o que pode ter proporcionado uma menor velocidade na absorção de água.

Os métodos de determinação avaliados, apresentaram diferenças significativas, sendo que aqueles com utilização de amêndoas inteiras a 103°C , 105°C e a 130°C, não diferiram entre si e determinaram graus de umidade superiores ou com tendência de superioridade àqueles cujas amêndoas foram moídas. Estes resultados provavelmente se devem à maior facilidade de perda de água e substâncias voláteis pelas amêndoas moídas, bem como à possíveis perdas de água durante o processo de moagem, que segundo Grabe (1992) podem ocorrer por aquecimento dos moinhos. A moagem de amêndoas de castanheira é dificultada pelo alto conteúdo de óleo da espécie, cerca de 70%, o que dificulta a adoção desta metodologia.

TABELA 1. Valores médios de graus de umidade, obtidos por diferentes métodos de determinação em sementes de Castanheira-do-Brasil, submetidas a diferentes pré-tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 1995.

Métodos de determinação	Graus de umidade (%)				Médias
	câmara seca	condição	embebição	embebição	
	300h.	ambiental	48h.	72h.	
105°C - 24 h.	4,0	8,9	12,9	14,0	10,2 a
103°C - 17 h.	5,0	9,6	13,0	14,1	10,4 a
103°C-17 h. moída	4,5	8,9	12,2	12,8	9,6 bc
130°C - 1 h.	4,3	8,7	12,7	14,7	10,1 ab
130°C-1 h. moída	3,8	8,4	12,0	13,9	9,5 c
Médias	4,5 D	8,9 C	12,6 B	13,9 A	10,0
CV(%)	5,38				

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

No experimento 2, os valores médios de umidade determinados pelos diferentes métodos nos dois lotes de sementes, não diferiram entre si (Tabela 2). O lote submetido a secagem em estufa apresentou em média umidade das amêndoas 31% menor. O alto coeficiente de variação deste experimento reflete a grande variabilidade entre a umidade de cada semente no lote, que variou em média entre 17 e 33 % para amêndoas oriundas de sementes. Pequenas variações no tamanho das sementes também podem ter afetado o resultado pois podem aumentar ou diminuir a superfície de perda d'água. Esta variação pode ter sido causada por diferentes condições de sítios de coleta, bem como por diferenças no tamanho das amêndoas, que variaram de 3,4 a 6,7 gramas cada. O uso de uma amêndoa por repetição visa a adequação do método de determinação de umidade das RAS, ao recipiente disponível, permitindo-se no máximo 0,3 gramas de sementes por

cm<sup>2</sup> de recipiente. Esta metodologia permite que se tenham melhores informações sobre a uniformidade de um lote em vista de se terem informações individualizadas.

Em análise de sementes é esperada e admitida uma certa variação entre duas sub-amostras ou repetições, que no caso de sementes florestais grandes com umidade menor que 12% é de 0,7% (BRASIL, 1992). Os valores das maiores diferenças entre as repetições do mesmo tratamento observadas no experimento 1, encontram-se na Tabela 3 e demonstram que em 70% dos tratamentos estes valores foram superiores à diferença mínima tolerada, indicando que as metodologias de análise adotadas necessitam ser aprimoradas para esta espécie.

TABELA 2. Valores médios de graus de umidade, obtidos por diferentes métodos de determinação, em sementes de Castanheira-do-Brasil recém coletadas e submetidas a desidratação em estufa por 24 horas a 30<sup>o</sup>C. UFLA, Lavras-MG, 1996.

Métodos de determinação	Graus de umidade (%)	
	Sementes frescas	Sementes desidratadas
105 °C por 24 horas	23,4 a	16,1 a
103 °C por 17 horas	24,0 a	16,8 a
130 °C por 1 hora	24,1 a	16,2 a
C.V.	20,9	19,4

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

TABELA 3. Valores das maiores diferenças entre graus de umidade obtidos entre repetições do mesmo tratamento, em sementes de Castanheira-do-Brasil, submetidas a diferentes pré-tratamentos e métodos de determinação. UFLA, Lavras-MG, 1995.

Métodos de determinação	Maiores diferenças entre graus de umidade obtidos em repetições do mesmo tratamento			
	câmara seca 300 h.	condição ambiental	embebição 48 h.	embebição 72 h.
105°C - 24 h.	1,0	1,2	0,7	1,6
103°C - 17 h,	0,4	0,9	0,8	0,9
103°C-17 h, moída	0,5	1,4	0,6	1,7
130°C - 1 h,	0,7	1,0	0,8	2,5
130°C-1 h, moída	0,1	0,8	1,2	1,2

### 3.4 CONCLUSÕES

Todos os métodos recomendados, para determinação do teor de água em estufa, apresentaram precisão inferior à prescrita por BRASIL (1992).

Apesar de haver necessidade de aprimoramento das metodologias para avaliação do teor de água em sementes de castanheira-do-brasil, existem maiores possibilidades de recomendação dos métodos de estufa a 105°C, 103°C e 130°C com uso de amêndoas inteiras, pela sua praticidade e por terem sido capazes, entre os métodos testados, de detectar maiores percentuais de água.

A moagem das sementes, por interferência do processo, conduz à obtenção de valores subestimados na determinação do grau de umidade das sementes.

A determinação de umidade em amêndoas individualizadas permite que se conheça melhor a uniformidade do lote de sementes.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYERST, G. ; BUDD, D. Effect of moisture content on the storage of Brazil nuts. **Journal of Science Food and Agriculture**. London, n. 11, p.390-396. 1960.
- BRASIL, Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília. 1992. 365p.
- CARVALHO, N. M. de. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 165p.
- FIGUEIREDO, F. J. C. ; CARVALHO, J. E. U. de. **Adiamento da semeadura de sementes de Castanha-do-Brasil**. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1990. 18p. (Boletim de pesquisa 112)
- FIGUEIREDO, F. J. C. ; CARVALHO, J. E. U. de ; FRAZÃO, D. A. C. **Nível crítico de umidade de sementes e seus efeitos sobre a emergência de plântulas de Castanha-do-Brasil**. Belém: EMBRAPA/ CPATU, 1990. 17p. (Boletim de pesquisa 113)
- FIGUEIREDO, F. J. C. ; DUARTE M. de L. R. ; FRAZÃO, D. A. C. ; CARVALHO, J. E. U. de. **Conservação de sementes de Castanha-do-Brasil sob condições controladas**. Belém: EMBRAPA/ CPATU, 1990. 22p. (Boletim de pesquisa 110)
- MORAES, V. H. de F. ; MULLER, C. H. **Influência da casca e da injeção de ácido giberélico na absorção de água pelas sementes da Castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**. Belém: EMBRAPA/ CPATU, 1978. 7p. (Comunicado técnico 2).
- OLIVEIRA, E. de C. ; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. ; FIGLIOLIA, M. B. Propostas para padronização de metodologias em análise de sementes florestais. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.11, n.1,2,3, p. 1-42, 1989),
- GRABE, D. F. Report of the seed moisture comitee, 1989-1992. **Seed Science and technology**. Zurich. v.20, p.77-89. 1992. (Supl.).

REIS, G. G. dos. Absorção de água pelas sementes de Castanha-do-Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.14, n.4, p. 397-400, dez. 1976.

SUPERINTENDÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA. **Estudos e pesquisas sobre a castanha-do-Pará**. Belém: SUDAM. 1976.100p.

TILLMANN, M. A. A. **Comparação entre métodos da estufa e de Karl Fisher na determinação do grau de umidade em sementes de milho e soja**. Piracicaba: ESALQ, 1993. 104p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia).

## 4 CAPÍTULO 3

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

### RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo, estabelecer padrões de coloração através do teste de tetrazólio, que permitam avaliar a qualidade fisiológica de sementes de castanheira-do-brasil. Aos 30 dias de armazenamento sob condições ambientais de laboratório e posteriormente a cada 15 dias, até um total de 105 dias, foram avaliados o grau de umidade e os padrões de coloração na secção interna das amêndoas. Com o tempo de armazenamento houve diminuição no grau de umidade e na percentagem de amêndoas com coloração rósea, além de aumento na percentagem de amêndoas com manchas de cor branca. A coloração branca tendeu a tomar toda a secção interna da amêndoa, indicando que está possivelmente associada à evolução da perda de água e deterioração das sementes.

## ABSTRACT

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

The objective of this work was to establish coloration patterns by the tetrazolium test in order to evaluate the physiological quality of Brazil nut seeds. The moisture content and the coloration patterns in the internal sections of the kernels were evaluated within 30 days of storage in laboratory conditions, and after that at 15 days, up to 105 days,. With the increasing of storage time there was an decrease in the moisture content and in the percentage of the kernels with pink color and an increase in the percentage of kernel with white dots. The white coloration tended to fill the internal section of the kernel indicating that might be a possible association of the evolution of water loss with seed deterioration.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

A castanheira-do-brasil é uma espécie nativa da Amazônia, produtora de sementes oleaginosas e ricas em proteínas de boa qualidade. Uma das maiores dificuldades para sua propagação é o processo germinativo lento e desuniforme, contornado, em parte, pela remoção do tegumento lenhoso (Müller e Freire, 1979; Müller, 1982). As sementes desta espécie apresentaram comportamento recalcitrante, com diminuição da capacidade de germinação com a redução no grau de umidade (Figueiredo, Carvalho e Frazão 1990). Sementes armazenadas em sacos de aniagem, sob condições ambientais de Belém, mostraram queda acentuada na germinação nos primeiros 90 dias de armazenamento com a redução da umidade de 19,6% para 11,2% (Figueiredo et al., 1990).

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

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

Este teste pode ser usado para a avaliação da viabilidade em sementes de espécies florestais, principalmente nas que requerem longo período de germinação (Rodrigues e Santos, 1988), no entanto poucas pesquisas tem sido efetuadas com a castanheira. Neste sentido, Reis et al., (1979), em trabalho pioneiro, identificaram coloração vermelha intensa no interior de sementes, como indicativo da localização do embrião e do alto potencial de viabilidade. Este trabalho deixa dúvidas sobre o potencial de uso deste teste, para a avaliação da viabilidade em sementes desta espécie, pois os autores utilizaram sementes armazenadas em sacos de aniagem por 10 meses sob condições de ambiente natural da Amazônia, e constataram alto potencial de viabilidade.

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

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Departamento de Agricultura da UFLA, de dezembro de 1994 a abril de 1995. Foram utilizadas sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) coletadas no norte do estado de Mato Grosso com umidade média de aproximadamente 18%. As sementes foram mantidas em sacos de aniagem sob condições ambientais do LAS e partir de 30 dias de armazenamento, em intervalos de 15 dias, até um total de 105 dias, foram avaliados o grau de umidade e os padrões de coloração das sementes submetidas ao teste de tetrazólio. As temperaturas médias e a umidade relativa do ar durante o período experimental encontram-se na Tabela 3.

TABELA 3. Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar, durante o período de dezembro de 1994 a abril de 1995. Lavras, MG.

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

Dados fornecidos pelo setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia da UFLA.

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

O tegumento lenhoso das sementes foi retirada com auxílio de prensa manual e alicate. As amêndoas foram seccionadas longitudinalmente e submetidas a embebição por 12 horas em água destilada, com posterior imersão em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio a 0,5% por 6 horas, sob temperatura de 30°C no escuro. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis épocas de avaliação e quatro repetições de 25 sementes cada.

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

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

### **4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados referentes aos padrões de coloração obtidos pelo teste de tetrazólio e aos graus de umidade das amêndoas, para os diferentes períodos de armazenamento, diferiram significativamente entre si, sendo que os valores médios de umidade decresceram até os 60 dias de armazenamento, com posterior tendência de estabilização em torno de 5% (Tabela 4).

TABELA 4. Valores médios do grau de umidade e do percentual de amêndoas com manchas de coloração branca na secção interna, obtidas pelo teste de tetrazólio, em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. Lavras, 1995.

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

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

Resultados semelhantes, foram obtidos por Figueiredo e Carvalho (1994), que sob condições ambientais de Belém, detectaram o ponto de equilíbrio entre a umidade do ambiente e de sementes de castanheira armazenadas em sacos de aniagem, em torno de 6%. Também observou-se semelhança entre as duas regiões, na percentagem média de redução do grau de umidade, que foi de 4,3% ao mês em Lavras e de 3,1% ao mês em Belém (Figueiredo e Carvalho, 1994), devendo a diferença de 1,2% ao mês, ser creditada principalmente à diferenças na umidade relativa do ar entre as duas localidades.

Os padrões de coloração observados na secção interna das amêndoas, variaram do róseo (semente viável) até o branco (semente morta) (Figura 5). Na maioria dos casos a coloração branca foi observada inicialmente na parte central da amêndoa, se estendendo para a periferia.

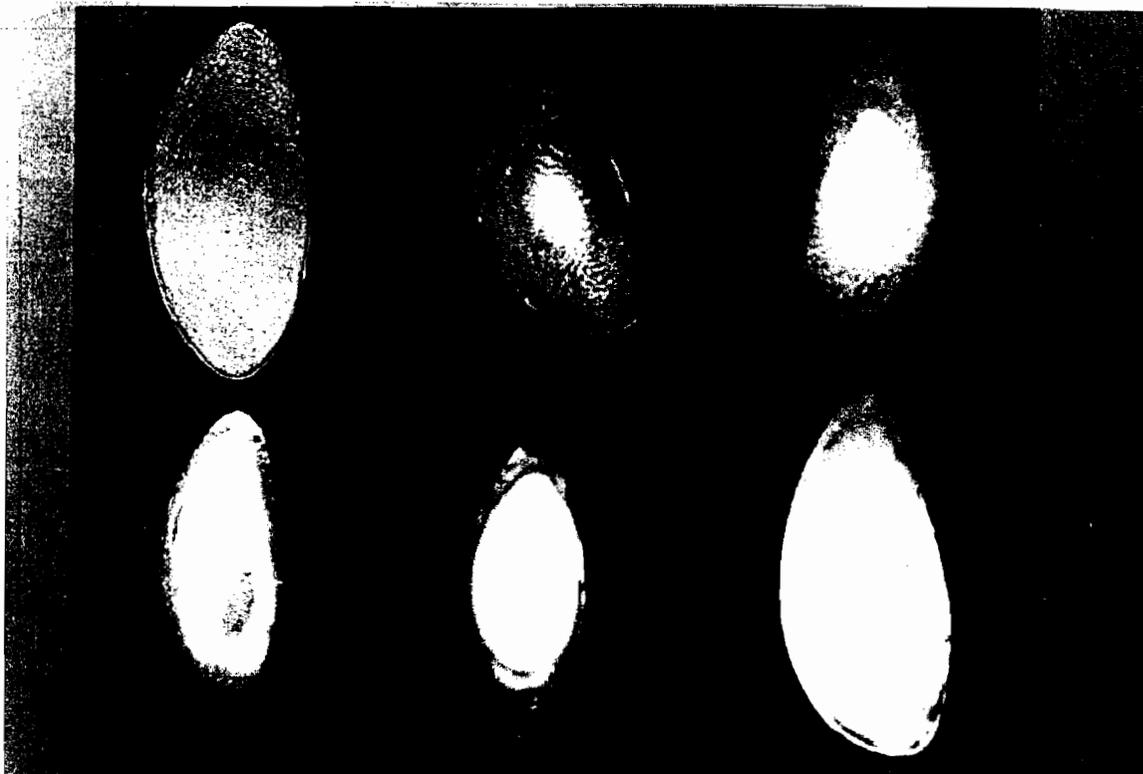


FIGURA 5. Padrões de coloração obtidos pelo teste de tetrazólio em secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil.

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

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

As curvas de regressão para os valores de umidade e percentual de amêndoas com coloração branca, em relação ao tempo de armazenamento, encontram-se na Figura 6. O

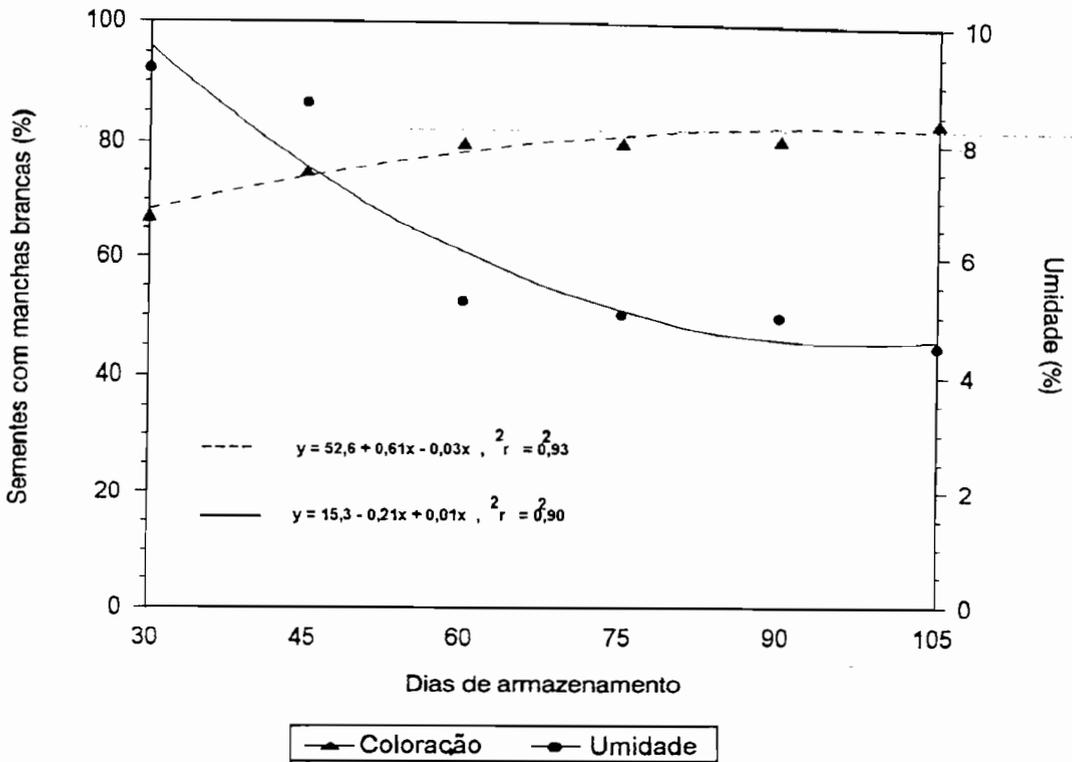


FIGURA 6. Curvas de regressão para os valores de umidade e percentual de amêndoas com coloração branca obtidas pelo teste de tetrazólio, em relação ao tempo de armazenamento.

coeficiente de correlação simples entre estes dois parâmetros foi negativo com valor de  $r$  igual a -0,87, indicando que o aumento no percentual de amêndoas com manchas brancas, em consequência da deterioração, possivelmente está associado à redução do grau de umidade. Estes resultados reforçam os obtidos por Figueiredo, Carvalho e Frazão (1990), que observaram redução da capacidade germinativa de sementes de castanheira, com o decréscimo do percentual de umidade.

Aos trinta dias de armazenamento, 32,8% das amêndoas apresentavam coloração rósea homogênea e tecidos mais túrgidos, porém não se observou coloração vermelha intensa no interior da amêndoa, que segundo Reis et al., (1979), seria um indicativo da localização do

embrião. Na periferia da amêndoa, observou-se nítida distinção de tecidos hipodérmicos com coloração rósea mais intensa, indicando maior atividade respiratória. Estes tecidos, possivelmente são responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas e são descritos por Vaughan (1970) como sendo um anel de tecido procambial envolto por células de parênquima e endosperma.

A partir de 75 dias de armazenamento, a área ocupada pelas manchas brancas no interior das amêndoas tendeu a aumentar, sendo então agrupadas em três classes de tamanho (Figura 7). Os valores médios para as percentagens de amêndoas classificadas com notas 1, 2, e 3 encontram-se na Tabela 5. Dos 75 aos 105 dias de armazenamento, observou-se tendência de crescimento na percentagem de amêndoas com mais de 50% da área com cor branca, que evoluiu de 28% para 36,3%.

Estes resultados indicam que há grande potencial para o uso do teste de tetrazólio, na avaliação da qualidade de sementes de castanheira, no entanto novos estudos devem ser efetuados no sentido de correlacionar os padrões de coloração com a germinação e também para se acompanhar as modificações morfológicas, que segundo Reis et al., (1979), resultam na diferenciação do embrião.

O teste de tetrazólio permitiu detectar danos mecânicos externos nas amêndoas, originados no processo de retirada do tegumento (Figura 8), o que reforça os relatos de Moore (1966), sobre a necessidade de aprender a reconhecer injúrias causadas pela preparação. Este fato torna o teste promissor para a avaliação de diferentes processos utilizados para a retirada do tegumento lenhoso que recobre a amêndoa, possibilitando o aprimoramento desta técnica.

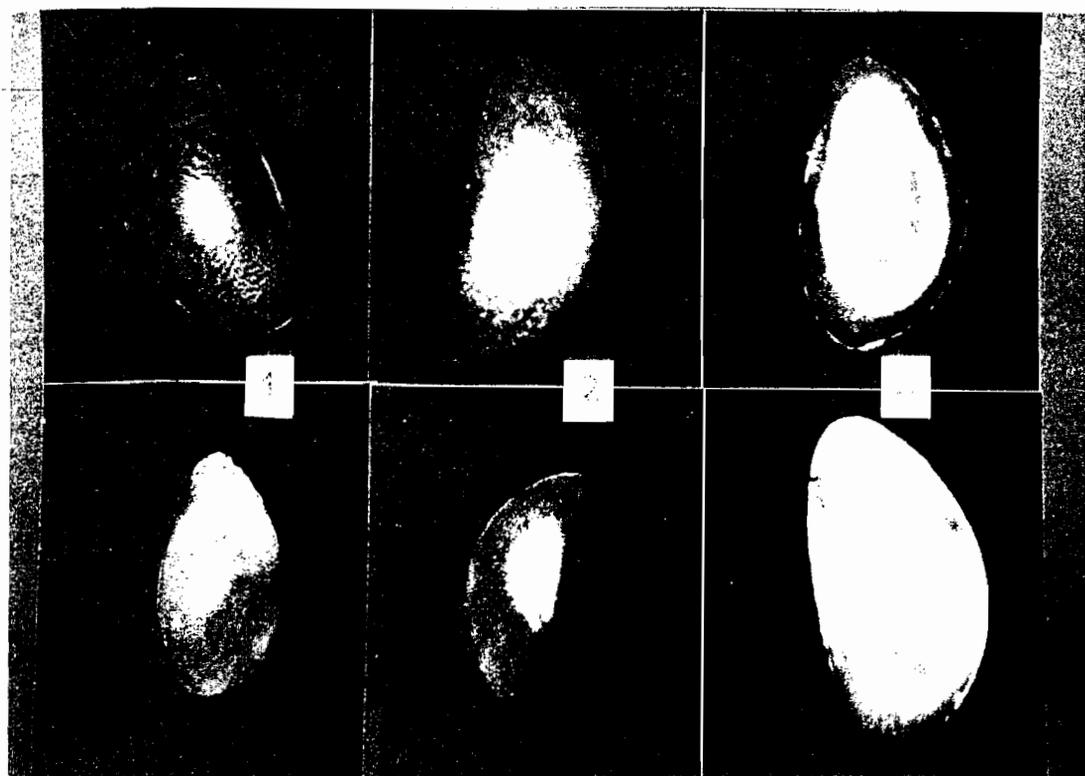


FIGURA 7. Diferentes categorias de amêndoas, classificadas de acordo com a área de coloração interna branca, obtidas pelo teste de tetrazólio. Nota 1- até 10% da área da secção interna da amêndoa com cor branca; Nota 2- de 10 a 50%; Nota 3- mais de 50%.

TABELA 5. Valores médios do percentual das amêndoas com manchas de coloração branca na secção interna, classificadas nas diferentes categorias, pelo teste de tetrazólio em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. Lavras, 1995.

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

<sup>1</sup> Nota 1- amêndoas com 10% da secção interna com cor branca; Nota 2 - amêndoas com 10 a 50% da secção interna com cor branca; Nota 3 - amêndoas com mais de 50% da secção interna com cor branca.



FIGURA 8. Comparação entre amêndoas de castanheira-do-brasil sem danos (primeira a direita) e com danos mecânicos observados após o teste de tetrazólio.

#### 4.4 CONCLUSÕES

O teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de castanheira-do-brasil.

Sementes de castanheira-do-brasil com maior umidade e menor período de armazenamento, submetidas ao teste de tetrazólio, apresentam coloração interna rósea homogênea, o que indica alta qualidade fisiológica.

A evolução do processo deteriorativo em sementes de castanheira-do-brasil está associada à redução do grau de umidade durante o período de armazenamento.

A deterioração dos tecidos inicia pela parte central da amêndoa estendendo-se para a parte periférica.

#### 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.
- DELOUCHE, J.C. ; STILL, T.W. ; RASPET, M. ; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.
- FIGUEIREDO, F.J.C. ; CARVALHO, J.E.U. de. **Avaliação de características recalcitrantes de sementes de castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1994. 17p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 154).
- FIGUEIREDO, F.J.C. ; CARVALHO J.E.U. de ; FRAZÃO, D.A.C. **Nível crítico de umidade e seus efeitos sobre a emergência de plântulas de castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1990. 17p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 113).
- FIGUEIREDO, F.J.C. ; DUARTE, M. de L.R. CARVALHO J.E.U. de ; FRAZÃO, D.A.C. **Armazenamento de sementes de castanha-do-brasil sob condições não controladas**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1990. 36p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 106).
- MOORE, R.P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, Louisville, v.44, n.3, p.22-24, 1972.
- MOORE, R.P. Tetrazolium test for diagnosing causes for seed weariness and for predicting and understanding performance. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v.56, p.70-73, 1966.
- MULLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 16).
- MÜLLER, C.H. ; FREIRE, F. das C.O. **Influência de fungicidas na conservação e na germinação de amêndoas de castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1979. 9p. (EMBRAPA-CPATU. Comunicado Técnico, 26).

REIS, G.G. dos ; CARVALHO, J.E.U. ; MÜLLER, C.H. **Calibração do teste de tetrazólio para sementes de castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1979. 9p. (EMBRAPA-CPATU. Comunicado Técnico, 17).

RODRIGUES, F.C.M.P. ; SANTOS, N.R.F. dos. Teste de tetrazólio. In: RODRIGUES, F.C.M.P (coord.). **Manual de análise de sementes florestais.** Campinas: Fundação Cargil, 1988. p.91-100.

VAUGHAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds.** London: Chapman Hall, 1970. 279p.

## 5 CAPÍTULO 4

### **CARACTERIZAÇÃO DA GERMINAÇÃO E DA VIABILIDADE EM SEMENTES DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL PELO TESTE DE TETRAZÓLIO.**

#### **RESUMO**

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a germinação e a deterioração em amêndoas de castanheira-do-brasil durante o processo germinativo através do uso do teste de tetrazólio. No primeiro experimento, a cada 15 dias, até os 90 dias após a semeadura, foram retiradas 200 amêndoas da sementeira, sendo estas avaliadas quanto à presença de estruturas germinativas, aparência e consistência dos tecidos. As amêndoas não germinadas que apresentavam consistência rígida, foram submetidas ao teste de tetrazólio. Este revelou padrões de coloração variando do róseo (semente viável) ao vermelho intenso, até o branco (amêndoas com diferentes graus de deterioração). No segundo experimento as sementes de castanheira aos 0; 25; 50 e 75 dias de armazenamento foram semeadas em areia, submetidas ao teste de tetrazólio e determinação de umidade. As amêndoas apresentaram diminuições no grau de umidade, percentagem de germinação e percentagem de amêndoas com coloração rósea, com o aumento no período de armazenamento. A germinação da castanheira ocorre a partir da diferenciação de tecidos localizados na hipoderme da amêndoa e a deterioração se inicia com a morte de tecidos localizados na parte interna. A cor rósea na secção interna da amêndoa é um indicativo de semente viável com potencial de germinação.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF BRAZIL NUT SEED THE GERMINATION AND SEED VIABILITY BY THE TETRAZOLIUM TEST

The objective of this work was to characterize the germination and the deterioration in Brazil nut kernels during the germination process through the use of tetrazolium test. In the first experiment, at each 15 days up to 90 days, 200 kernels were removed from the seedbed, and evaluated by the presence of germinative structures, appearance and consistency. The kernels that did not germinate and presented hard consistency were submitted to the tetrazolium test. This test revealed coloration patterns varying from pink (viable seeds) to intense red and up to white (kernels with different deterioration grades). In the second experiment, Brazil nut seeds with 0, 25, 50 and 75 days of storage were sowed in sand, submitted to the tetrazolium test and had their moisture content determined. The kernels showed an decrease in the moisture content, germination percentage and in the percentage of kernel with pink color, with the increase of storage time. The germination of Brazil nut kernels initiated from differentiation of hypodermic tissues and the deterioration started with the death of the internal tissues. The pink color in the internal section is indicative of viable seeds with good germination potentials.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A castanheira-do-brasil é uma espécie nativa da Amazônia, com grande valor econômico, quer seja por suas sementes oleaginosas, ricas em amino-ácidos essenciais, ou por sua madeira. A espécie apresenta grande potencial para uso em projetos de reflorestamento e em sistemas agroflorestais.

Uma das maiores dificuldades para sua propagação é o processo germinativo lento e desuniforme, contornado, em parte, pela remoção do tegumento lenhoso (Müller e Freire, 1979). Segundo Müller (1981) a germinação da castanheira pode se prolongar por até cinco meses após a semeadura, atingindo percentagens de germinação superiores a 70%. O longo período requerido para a germinação expõem as amêndoas a um processo de deterioração que envolve a morte de tecidos e pode ocasionar diminuição no estabelecimento das plântulas.

O armazenamento de sementes de castanheira em condições ambientais, provoca redução acentuada no grau de umidade e uma série de injúrias, que se manifestam causando diminuição na germinação (Figueiredo e Carvalho, 1994).

A avaliação da qualidade de sementes envolve principalmente o uso do teste padrão de germinação, que apresenta grandes limitações para sementes de germinação lenta e com baixa capacidade de armazenamento. Nestes casos o desenvolvimento de testes rápidos para avaliação da viabilidade de sementes é de grande importância.

O teste de Tetrazólio é um teste bioquímico aplicado à sementes, que se baseia na atividade enzimática dos tecidos, no qual o sal de tetrazólio incolor e insolúvel, reage com íons hidrogênio e se transforma no pigmento formazan, insolúvel e de cor vermelha. Esta reação permite um delineamento bastante nítido entre o tecido que respira, que adquire cor vermelha característica, daquele que não respira e que mantém sua cor original (Delouche et al., 1976).

Este teste pode ser usado para a avaliação da viabilidade em sementes de espécies florestais, principalmente nas que requerem longo período de germinação, devendo o resultado ser comparado com o teste de germinação (Rodrigues e Santos, 1988), no entanto poucas pesquisas tem sido efetuadas com a castanheira. Neste sentido, Reis et al., (1979), em trabalho pioneiro, identificaram coloração vermelha intensa no interior de amêndoas de castanheira armazenadas por 10 meses em sacos de aniagem, como indicativo do alto potencial de viabilidade, no entanto não determinaram a umidade das sementes. Para estes autores o embrião da castanheira seria aparentemente não diferenciado, sugerindo que durante a germinação, ocorreriam modificações morfológicas que justificariam a demora na germinação.

Avaliando sementes de castanheira com diferentes períodos de armazenamento através do teste de tetrazólio, Camargo, Carvalho e Vieira (1995), identificaram manchas de coloração branca no interior das amêndoas, como indicativo da morte e deterioração de tecidos e a coloração rósea, como indicativo de viabilidade, no entanto não foram comparados os resultados do teste de tetrazólio com o teste de germinação. Estes autores, ainda identificaram tecidos hipodérmicos com coloração rósea mais intensa, que seriam aqueles responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas.

O teste de Tetrazólio aplicado à amêndoas de castanheira durante o processo de germinação pode facilitar a identificação dos tecidos vitais, que vão sofrer modificações morfológicas originando as estruturas germinativas. O resultado deste teste aplicado à amêndoas com diferentes graus de umidade, correlacionado com o resultado da germinação, pode proporcionar o estabelecimento de padrões de coloração que permitam a predição do potencial germinativo de um lote de sementes.

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a germinação e a deterioração em amêndoas de castanheira-do-brasil durante o processo germinativo através do teste de tetrazólio e

correlacionar padrões de coloração obtidos em amêndoas com diferentes graus de umidade, com a percentagem de germinação.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram instalados dois experimentos no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) da UFPA. Sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) foram coletadas no município de Paranaíta, norte do estado do Mato Grosso em dezembro de 1994 e 1995.

No experimento 1, realizado em casa-de-vegetação, as sementes da primeira coleta com umidade média de aproximadamente 18%, foram submetidas à retirada da tegumento lenhoso, sendo as amêndoas tratadas com fungicida e semeadas em canteiro com areia previamente desinfestada com brometo de metila, de acordo com metodologia proposta por Muller (1982). A cada 15 dias, até os 90 dias, retiraram-se 200 amêndoas da sementeira, sendo estas avaliadas quanto a germinação (protrusão radicular e/ou caulinar) e a aparência e consistência dos tecidos.

Em cada avaliação, as amêndoas não germinadas e de consistência firme, aparentemente viáveis e uma amostra de cinco a dez amêndoas germinadas e com sinais externos de deterioração foram submetidas ao teste de tetrazólio. O teste foi efetuado seguindo metodologia modificada de Reis et al., (1979), na qual as amêndoas foram lavadas e seccionadas longitudinalmente, com posterior imersão em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio a 0,5% por cinco horas, sob temperatura de 30°C no escuro. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis épocas de avaliação e quatro repetições de 25 amêndoas cada.

No experimento 2, foram utilizadas sementes armazenadas em sacos de aniagem sob condições ambientais do LAS, com umidade média inicial de aproximadamente 23%. A cada 25

dias até os 75 dias de armazenamento, as sementes foram submetidas ao teste de tetrazólio, à determinação de umidade e ao teste de germinação. As temperaturas médias e umidades relativas do ar durante o período experimental, encontram-se na Tabela 6. O teste de germinação foi efetuado em canteiros de areia de acordo com metodologia descrita por Müller (1982).

O teste de tetrazólio foi efetuado colocando-se as sementes em água corrente por 48 horas, seguindo-se de prensagem para retirada do tegumento lenhoso, sendo as amêndoas seccionadas longitudinalmente, submetidas a embebição por 12 horas em água destilada e posteriormente imersas em solução de sal de tetrazólio de acordo com a metodologia do experimento anterior. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com quatro períodos de armazenamento e cinco repetições de 25 amêndoas cada.

Na sementeira, foram adotadas cinco repetições com 50 amêndoas, sendo avaliadas as percentagens de germinação aos 150 dias após a semeadura. Foram consideradas como germinadas as amêndoas que apresentaram protrusão de raiz e/ou epicótilo.

As determinações de umidade foram efetuadas pelo método de estufa a 105°C por 24 horas (Brasil 1992), adotando-se 20 repetições de uma amêndoa cada.

TABELA 6. Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar, durante o período de dezembro de 1995 a março de 1996. UFLA, Lavras-MG.

Mês	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
Dezembro (95)	22,2	79
Janeiro (96)	23,2	75
Fevereiro	22,9	77
Março	22,8	79

Dados fornecidos pelo setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia da UFLA.

Os dados de percentagem de amêndoas com padrão de coloração rósea na secção interna, graus de umidade e percentagem de germinação, foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variâncias, análise de variância pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. No experimento 2, foi determinado o coeficiente de correlação entre a percentagem de amêndoas com coloração rósea e a percentagem de germinação.

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, foi observado o início da germinação aos 15 dias após a sementeira, chegando-se a 46,3% de germinação aos 90 dias. Este valor se aproxima dos 58,4% de emergência observados por Figueiredo e Carvalho (1994) em Belém, em sementes com cerca de 18% de umidade, pelo mesmo período de tempo.

Até os 30 dias após a sementeira todas as amêndoas germinadas apresentavam apenas raiz (Tabela 7) e dos 45 aos 90 dias, cerca de 83% das amêndoas germinadas apresentavam raiz e/ou epicótilo e cerca de 17% apresentavam apenas epicótilo, indicando que o processo germinativo nesta espécie inicia preferencialmente pela diferenciação e protrusão da raiz primária, seguindo-se do epicótilo. Em alguns casos a protrusão das estruturas germinativas eram precedidas da formação de calosidades na superfície das amêndoas. A desuniformidade na emissão de estruturas germinativas, já havia sido relatada por Müller et. al., (1980), como possível consequência do balanço hormonal nos polos germinativos ou do posicionamento do embrião dentro da semente.

O teste de tetrazólio aplicado em amêndoas firmes sem manifestação externa de deterioração e que aparentemente ainda iriam germinar, revelou padrões de coloração, que

TABELA 7. Valores médios para as percentagens de amêndoas com secção interna de coloração rósea no teste de tetrazólio, para as percentagens de germinação, de amêndoas com emissão de estruturas germinativas e de amêndoas deterioradas, em diferentes períodos após a sementeira. UFLA, 1995.

Períodos pós semeadura	Amêndoas deterioradas	Amêndoas com cor rósea	Germinação	Emissão de estruturas germinativas		
				Raíz	P. aérea	Raíz+P. aérea
Dias	%					
15	1,3	77,0 c	0,6	100	-	-
30	7,0	76,7 c	10,4	100	-	-
45	7,3	77,5 bc	21,9	43,3	23,4	33,3
60	9,2	78,7 abc	30,2	52,6	21,0	26,4
75	9,0	89,2 ab	38,6	45,6	19,6	34,8
90	9,5	89,7 a	46,3	53,4	5,2	41,4
C.V.	-	6.4	-	-	-	-

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

variaram do róseo, indicativo de tecidos viáveis, ao vermelho intenso, tecidos com diferentes graus de deterioração, até o branco, indicativo de tecidos mortos (Figura 9). Houve um aumento significativo na percentagem de amêndoas com coloração rósea com o decorrer do tempo em sementeira. A coloração vermelha em diferentes intensidades e a cor branca, apareceram na parte central das amêndoas, associadas à menor consistência dos tecidos, indicando aqueles em avançado processo de deterioração e aqueles mortos. A perda de consistência dos tecidos evoluiu para um colapso interno. A coloração vermelha intensa apareceu na maioria das vezes na forma de um halo ao redor de uma área branca na parte central da amêndoa.

Em amêndoas armazenadas, Camargo, Carvalho e Vieira (1995), já haviam observado coloração branca associada à morte de tecidos nesta mesma região. Segundo Moore (1972), tecidos de cor vermelho intenso refletem uma condição em que a permeabilidade e

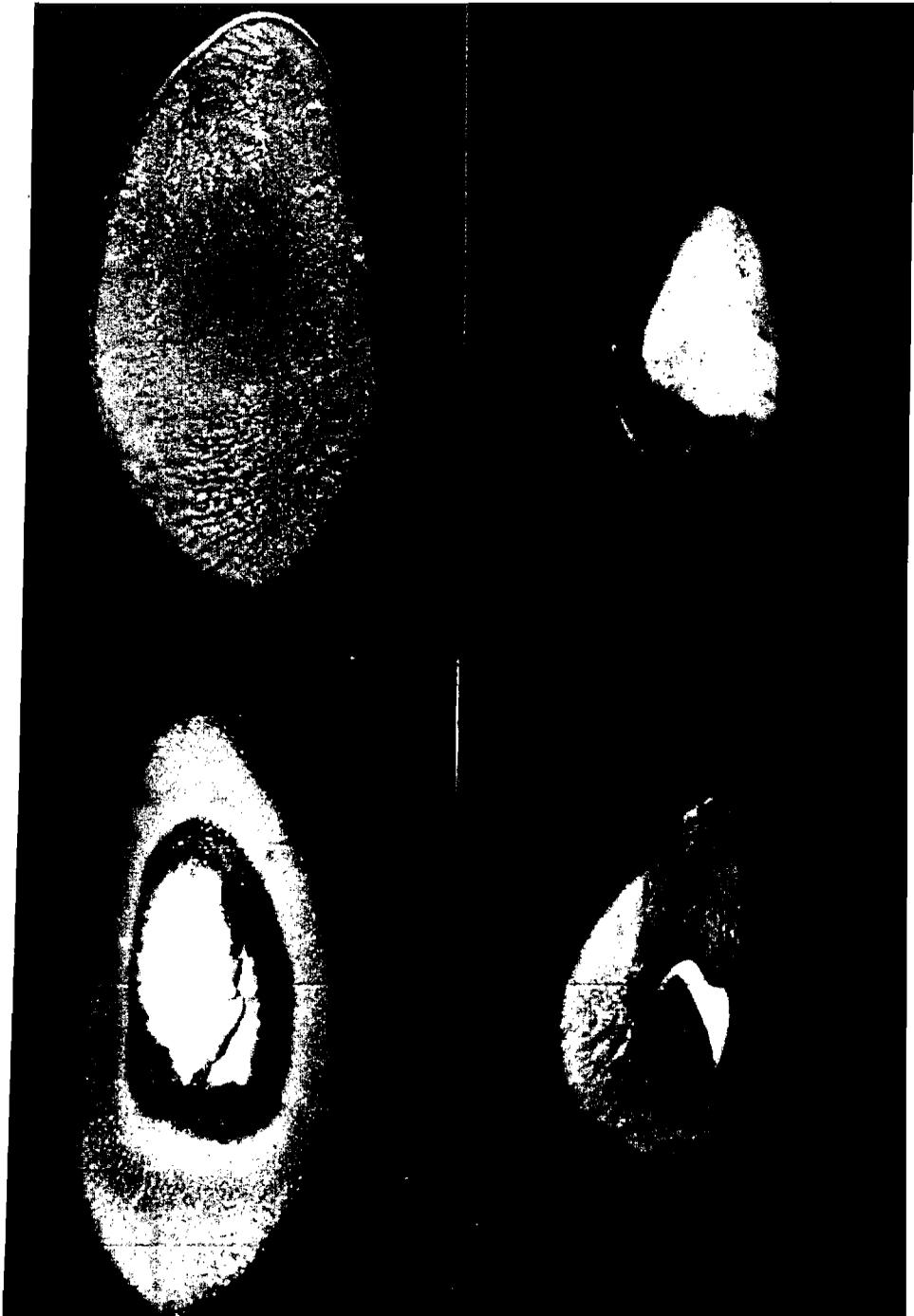


FIGURA 9. Padrões de coloração obtidos em secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil, retiradas da sementeira sem deterioração externa visível e submetidas ao teste de tetrazólio.

respiração aumentam temporariamente antes de se estabelecer a condição de área mortas, não coloridas.

O processo de deterioração observado em sementeira possivelmente teve início durante o armazenamento que antecedeu à sementeira, e se intensificou durante o período de embebição. Figueiredo et. al., (1990) relataram que embora não seja exteriorizado, o processo de deterioração em sementes de castanheira se inicia durante o armazenamento. Segundo Smith e Berjak (1995), sementes oleaginosas apresentam tendência de ter maior sensibilidade ao dessecamento, devido a fatores como peroxidação dos lipídeos, liberação de radicais livres e aldeídos tóxicos, além da inoperância de mecanismos reparadores em condições de baixo conteúdo de água, o que pode causar danos irreparáveis às membranas durante o processo de embebição.

Em amêndoas germinadas, submetidas ao teste de tetrazólio, foi observado início de protrusão radicular e desenvolvimento do epicótilo, mesmo com evidentes sinais de deterioração nos tecidos da parte central (Figura 10), demonstrando que as áreas vitais para a diferenciação da raiz e epicótilo, se localizam em tecidos hipodérmicos que circundam as amêndoas, preferencialmente nas regiões basal e apical.

Os tecidos hipodérmicos apresentaram coloração rósea, que se intensificou, destacando-se do resto da amêndoa no decorrer do processo germinativo (Figuras 11A e 11B), caracterizando-os como locais de maior atividade enzimática e respiratória. Em amêndoas armazenadas, Camargo, Carvalho e Vieira (1995), já haviam identificado coloração rósea mais intensa nestes tecidos, como indicativo de possíveis locais de origem das estruturas germinativas. Vaughan (1970), descreve nesta mesma região da amêndoa a presença de um anel de tecido procambial circundado por células de parênquima e endosperma.



FIGURA 10. Padrões de coloração obtidos em secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil germinadas, retiradas da sementeira e submetidas ao teste de tetrazólio.

Foi observado que no decorrer do processo germinativo os tecidos hipodérmicos se diferenciaram formando calosidades, raiz primária e o epicótilo (Figuras 11C, 11D, 11E, 113F) preferencialmente nos polos basal e apical da amêndoa, e os feixes vasculares, que fazem a conexão entre as estruturas germinativas (Figura 11G).

Os sintomas de deterioração externa, variaram de manchas escuras, em alguns casos necróticas e com crescimento fúngico visível, até estádios mais avançados com podridão aquosa completa da amêndoa e presença de odor forte característico. Algumas amêndoas com sintomas externos de deterioração foram submetidas ao teste de tetrazólio. Foi observado nestes

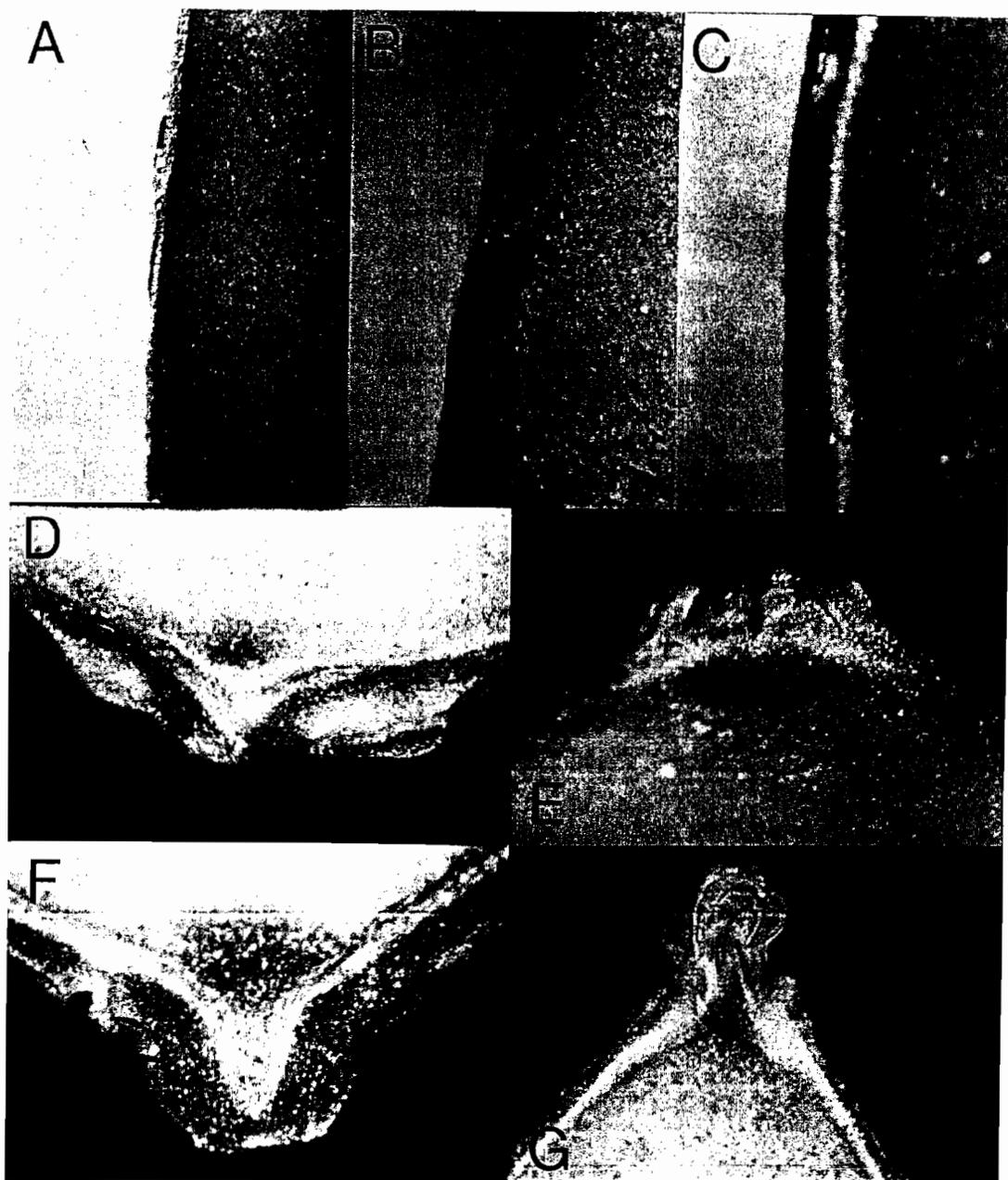


FIGURA 11. Detalhe dos tecidos hipodérmicos, na secção interna de amêndoas de castanheira-do-brasil recém colhidas (A), 45 dias após a sementeira (B) e em plântulas (C) e deste tecido diferenciado, formando calosidades (D,E), raiz primária (F) e o epicótilo.(G).

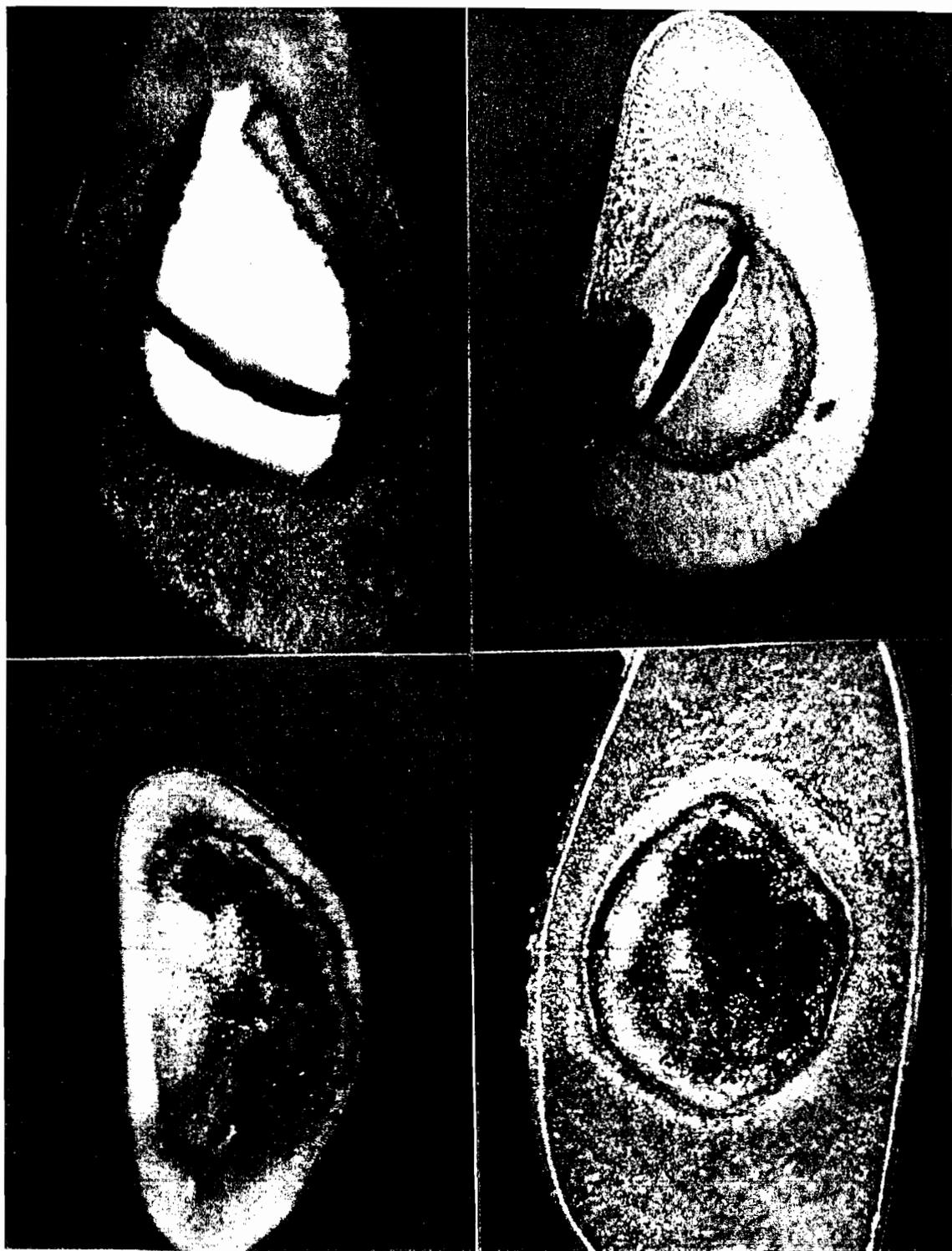


FIGURA 12. Padrões de coloração obtidos em secções internas de amêndoas de castanheira-do-brasil com deterioração externa visível, retiradas da sementeira e submetidas ao teste de tetrazólio.

TABELA 8. Valores médios para graus de umidade, percentagens de amêndoas com coloração rósea no teste de tetrazólio e percentagens de germinação aos 150 dias após a semeadura, em sementes de castanheira-do-brasil submetidas a diferentes períodos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 1996.

Períodos de Armazenamento	Amêndoas com coloração rósea	Germinação	Umidade
Dias		%	
0	94,8 a	86,2 a	22,6 a
25	94,0 a	84,8 a	17,5 b
50	49,6 b	80,7 a	11,2 c
75	20,0 c	67,4 b	7,5 d
C.V.	4,3	3,7	21,5

Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de tukey ao nível de 5%.

diminuição no percentual de amêndoas com coloração rósea como reflexo da diminuição na umidade.

O coeficiente de correlação entre os percentuais de germinação e de amêndoas com coloração rósea, foi de 85,7%, indicando que o teste de tetrazólio pode ser utilizado com sucesso para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de castanheira, porém com certa precaução pois a presença de manchas brancas na parte central da amêndoa não significa necessariamente inviabilidade. Segundo Delouche et. al. (1976), para se ter maior precisão na interpretação do teste de tetrazólio é preciso repetir várias vezes o teste em diferentes lotes de sementes. O conhecimento anatômico e morfológico da semente também é de grande importância para que se possa avaliar se o dano ou a área deteriorada irá prejudicar efetivamente a germinação.

No caso das amêndoas de castanheira, a deterioração e morte de tecidos, caracterizadas pela coloração branca, possivelmente só irão causar danos significativos à

germinação se atingirem uma determinada porção da amêndoa ou os tecidos vitais localizados na hipoderme.

## 5.4 CONCLUSÕES

A germinação da castanheira-do-brasil ocorre a partir da diferenciação de tecidos meristemáticos localizados na hipoderme das amêndoas, preferencialmente nos polos germinativos, iniciando-se pelo protrusão radicular.

A deterioração das amêndoas em sementeira inicia na sua porção central, estendendo-se para a porção externa.

O teste de tetrazólio permite avaliar a viabilidade de sementes de castanheira-do-brasil.

Sementes de castanheira viáveis e de boa qualidade fisiológica, apresentam coloração rósea homogênea na secção interna da amêndoa.

## 5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.
- CAMARGO, I.P. de ; CARVALHO, M.L.M. ; VIEIRA, M. das G.G.C. Avaliação da evolução da deterioração de sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) pelo teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5, Lavras, **Anais...**Lavras, SBFV-UFLA, 1995. p.34.
- DELOUCHE, J.C. ; STILL, T.W. ; RASPET, M. ; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.

FIGUEIREDO, F.J.C. ; CARVALHO, J.E.U. de. **Avaliação de características recalcitrantes de sementes de castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1994. 17p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 154).

FIGUEIREDO, F.J.C. ; DUARTE, M. de L.R. CARVALHO J.E.U. de ; FRAZÃO, D.A.C. **Armazenamento de sementes de castanha-do-brasil sob condições não controladas.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1990a. 36p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 106).

MOORE, R.P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, Louisville, v.44, n.3, p.22-24, 1972.

MÜLLER, C.H. **Castanha-do-Brasil, estudos agronômicos.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1981. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos 1)

MULLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 16).

MÜLLER, C.H. ; FIGUEIREDO, F.J.C. **Profundidade e posição de semeadura de sementes de castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1991. 18p. (EMBRAPA-CPATU, Circular técnica, 62)

MÜLLER, C.H. ; FREIRE, F. das C.O. **Influência de fungicidas na conservação e na germinação de amêndoas de castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1979. 9p. (EMBRAPA-CPATU. Comunicado Técnico, 26).

MÜLLER, C.H. ; RODRIGUES, I.A. ; MÜLLER, A. A. ; MÜLLER, N.R.M. **Castanha-do-brasil: resultados de pesquisa.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1980. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Miscelânea, 2).

REIS, G.G. dos ; CARVALHO, J.E.U. ; MÜLLER, C.H. **Calibração do teste de tetrazólio para sementes de castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1979. 9p. (EMBRAPA-CPATU. Comunicado Técnico, 17).

RODRIGUES, F.C.M.P. ; SANTOS, N.R.F. dos. Teste de tetrazólio. In: RODRIGUES, F.C.M.P (coord.). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargil, 1988. p.91-100.

SMITH, M.T. ; BERJAK, P.Changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and desiccation-sensitive seeds. In: KIGEL, J. ; GALILI, G.A.D. **Seed development and germination**. New York: Dekker. 1995. p.701-746.

VAUGHAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds**. London: Chapman & Hall. 1970. 279p.

## **6 CAPÍTULO 5**

### **ASPECTOS DA ANATOMIA E MORFOLOGIA DE AMÊNDOAS E PLÂNTULAS DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL**

#### **RESUMO**

Os estudos em propagação de plantas, envolvem conhecimentos básicos sobre as sementes e suas transformações até a formação da plântula. O conhecimento das características anatômicas e morfológicas das plântulas e sementes, pode contribuir para um melhor entendimento do processo de germinação. O objetivo deste trabalho foi descrever aspectos anatômicos e morfológicos de amêndoas e plântulas de castanheira-do-brasil, caracterizando os tecidos responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas. Amêndoas de castanheira antes e 45 dias após a sementeira e plântulas retiradas aos 120 dias da sementeira foram submetidas a técnicas usuais em botânica para confecção de lâminas e análise de tecidos. A amêndoa, da castanheira é composta principalmente por tecidos parenquimáticos delimitados por um anel de tecido meristemático, sendo estes envoltos por uma camada epidérmica e uma película lignificada. O epicótilo e a raiz primária são formados a partir dos tecidos meristemáticos pré-existentes, localizados preferencialmente nas regiões dos pólos caulinar e radicular. A estrutura anatômica do embrião explica em parte o lento processo germinativo nesta espécie e se relaciona com o sucesso em sua dispersão em condições naturais.

## ABSTRACT

### ASPECTS OF ANATOMY AND MORPHOLOGY OF BRAZIL NUT KERNELS AND SEEDLINGS

The studies on plant propagation, involve basic knowledge about seed and their transformation until seedling formation. The knowledge of anatomic and morphologic characteristics, of seeds and seedlings may contribute to the best intend of the germination process.

The objective of this work was to describe anatomic and morphologic aspects of kernels and seedlings of brazil nut, through the characterization of tissues responsible to the germinating structures differentiation. The kernels, prior and 45 days after sowing and seedling was removed to the seedbed and was submmited at usual botanical techniques to make slides and tissue analysis. The kernel or embryo of brazil nut is primarily composed by parenquimatic tissues delimited by a meristematic ring with these tissues covered by a epidermic layer and a lignified pellicle. The epicotyl and primary root take place with the diferentiation of pré-exintent meristematic tissues preferentially in the epycotil and radicular pole. The anatomic structure of embrio explain in part the slow germinative process in this specie and are correlacted with the success of the dispersal process in natural condiction.

#### 6.1 INTRODUÇÃO

Os estudos em propagação de plantas, envolvem conhecimentos básicos sobre as sementes e suas transformações até a formação da plântula. Para Crestana e Beltrati (1988),

estudos de anatomia, morfologia e germinação de sementes de espécies florestais tropicais são fundamentais e se tornam urgentes, a medida que cresce a demanda por seus produtos.

Na propagação da castanheira-do-brasil, (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) utiliza-se basicamente a semente em substrato de areia, com posterior repicagem da plântula para sacolas plásticas, antes da abertura das folhas primárias (Müller, 1982). Esta espécie apresenta processo germinativo lento, sendo que a protrusão radicular e da parte aérea a partir da amêndoa, pode apresentar desuniformidade (Müller et al., 1980). Segundo Reis, Carvalho e Müller (1979), a germinação lenta nesta espécie pode ser explicada pela presença de um embrião não diferenciado por ocasião da dispersão das sementes.

Barroso 1978 citado por Beltrati (1990), denominou o embrião do gênero *Bertholletia* de conferruminado, descrevendo-o como uma estrutura ovóide, elipsóide ou claviforme, sem delimitação de cotilédones nem de eixo hipocótilo-radícula. Já Prance e Mori (1978), denominaram o embrião da castanheira como do tipo macropodial, sem presença de cotilédones diferenciados e com sua maior parte constituída pelo hipocótilo.

Em extensa obra sobre anatomia de sementes Corner (1976), cita que a semente da castanheira apresenta um embrião tipo hipocotilar e dois tegumentos.

Embrião hipocotilar também foi observado em pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), onde o hipocótilo tem função de acumular material de reserva (Barradas, 1973). Segundo este autor, no pequi observa-se ao redor do hipocótilo um anel de tecido procambial, que apresenta grande capacidade regenerativa. Um tecido composto de anel procambial, também foi descrito por Vaughan (1970), em sementes de castanheira.

Estudos de Camargo, Carvalho e Vieira (1996), demonstraram, que as áreas vitais para diferenciação da raiz e parte aérea, se localizam em tecidos hipodérmicos na periferia das

amêndoas, preferencialmente nos pólos basal e apical, porém estes autores não avaliaram a natureza destes tecidos quanto ao aspecto anatômico, bem como qual o seu papel na diferenciação das estruturas germinativas.

Através do estudo da anatomia e morfologia de amêndoas e plântulas de castanheira, pode-se conhecer melhor o processo germinativo nesta espécie e maximizar a transformação das amêndoas em plântulas, bem como compreender melhor o processo de estabelecimento desta espécie em condições naturais da floresta. O conhecimento da natureza dos tecidos das sementes e das plântulas, também são importantes para subsidiar estudos de propagação *in vitro*.

O objetivo deste trabalho foi descrever aspectos anatômicos e morfológicos de amêndoas e plântulas de castanheira-do-brasil, caracterizando os tecidos responsáveis pela diferenciação das estruturas germinativas.

## 6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) foram coletadas no município de Paranaíta, região norte do estado de Mato Grosso, em dezembro de 1995. As sementes foram submetidas à embebição por 48 horas em água corrente e prensadas para retirada do tegumento lenhoso. Amostras de amêndoas foram semeadas em canteiros com areia, de acordo com as recomendações de Müller (1982) e fixadas para estudos botânicos.

Amostras de amêndoas foram coletadas aos 45 dias após a semeadura e amostras de plântulas aos 120 dias. Foram selecionadas plântulas que apresentassem raiz e pelo menos uma folha primária. O material botânico foi fixado em FAA 70% por 72 horas e conservado em álcool 70 °GL.

O material fixado foi submetido à desidratação em série etílica e incluído em parafina, de acordo com Johansen (1940) e Sass (1951). Foram efetuados cortes histológicos nas porções apical (pólo caulinar), mediana e basal (pólo radicular), das amêndoas com base na descrição efetuada por Müller (1982). Nas plântulas, foram efetuados cortes nas porções apical e basal da raiz primária, respectivamente a 10 mm do ápice da raiz e da inserção desta na amêndoa, na porção mediana do caule em região internodal e na porção mediana do hipocótilo, representado pelos restos da amêndoa. Nas folhas primárias foram efetuados cortes paradérmicos, nas superfícies abaxial e adaxial e transversais na região da nervura central. Com auxílio de câmara clara adaptada a um microscópio, foi avaliado o número médio de estômatos por  $\text{mm}^2$ .

Os cortes foram efetuados com auxílio de micrótomo rotatório, em séries orientadas transversalmente, adotando-se técnicas usuais, descritas por Jensen (1962). Foram efetuados também cortes a mão livre, com auxílio de lâmina de aço inoxidável e inclusão do material em isopor, sendo estes submetidos à clarificação em solução de hipoclorito de sódio a 20% de produto comercial, por período de tres a cinco minutos. Os cortes foram em seguida neutralizados com solução de ácido acético a 5% por um minuto. A coloração foi efetuada com imersão em corante verde iodo acético por dois a tres minutos, seguindo-se de tres lavagens em água destilada e imersão em corante vermelho congo por tres a cinco minutos, repetindo-se as lavagens. As lâminas foram montadas em resina sintética ou água glicerizada e avaliadas em microscópio.

Secções transversais da parte mediana da amêndoa foram submetidas a teste com solução aquosa de Sudan IV (Johansen 1940), para identificação de corpos lipídicos.

Raízes primárias foram observadas sob microscópio estereoscópico para avaliação da existência de zona pilífera. As preparações e análises foram efetuadas no Laboratório de Citologia

e Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, Minas Gerais.

### 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise histológica das amêndoas, demonstrou a presença de seis tecidos ou grupos de células com características distintas (Figura 13A). Após a retirada do tegumento lenhoso, as amêndoas ficaram envoltas por uma película de coloração marron, que em determinados locais ficava aderida ao tegumento, expondo o tecido interior. Esta película se apresenta como um tecido bastante lignificado, composto por células mortas sem distinção visível entre si e pouco aderente ao tecido interno adjacente. Este tecido é descrito por Vaughan (1970), como sendo formado por células comprimidas e denominado de perisperma. Perisperma, segundo Mauseth (1988) e Beltrati (1990), é um termo que designa tecido de reserva originado do nucelo. É possível que o tecido em questão seja o perisperma ou parte dos tegumentos da semente. Para se conhecer sua denominação exata, seriam necessários estudos embriológicos mais detalhados.

O tecido interno adjacente, se apresenta como uma camada epidérmica, bisseriada, com células de formato tabular e com paredes celulares espessadas (Figura 13B). Para Corner (1976) este tecido se trata do endosperma, que pode ter de duas a tres camadas de células. Este tecido tem função de proteção apresentando células diferenciadas, sem capacidade de multiplicação, pois se rompe durante o processo de germinação nos locais de protrusão de raiz e parte aérea.

Internamente a este tecido epidérmico, apresenta-se uma camada de células de formato arredondado, tamanho irregular, com paredes delgadas e presença de corpos de óleo. Este tecido apresenta a primeira camada distinta, unisseriada, com células circulares, menores e

mais uniformes (Figura 13C). Segundo Vaughan (1970), este é um tecido parenquimático que compõem a maior parte da amêndoa da castanheira. Os parênquimas, segundo Cutter (1986) apresentam células relativamente não especializadas, com potencial para retomada de atividade meristemática, podendo apresentar diversas atividades funcionais, bem como armazenar material de reserva. Na amêndoa de castanheira este tecido apresenta grande potencial de proliferação, pois com 45 dias de sementeira, foi observado a partir dele a formação de calosidades, que precediam a protrusão das estruturas germinativas (Figuras 13D e 13E). As calosidades que precediam o aparecimento do epicótilo, apresentavam epiderme com tricomas, possivelmente originada da primeira camada unisseriada do parênquima.

Anexo a este tecido parenquimático encontra-se outro de características semelhantes, que preenche todo o conteúdo da amêndoa, porém com células maiores e mais alongadas. Delimitando estes dois tecidos encontra-se um outro com espessura média de 50  $\mu\text{m}$ , composto por quatro a seis camadas de células pequenas, arredondadas, de tamanho uniforme e de características meristemáticas (Figura 14A). Este tecido foi denominado por Vaughan (1970) como anel de tecido procambial. Em amêndoas com 45 dias após a sementeira, pôde-se observar que a partir deste tecido meristemático, preferencialmente nas regiões polares das amêndoas, se originam os meristemas apicais da raiz (Figura 14B) e da parte aérea. A presença de corpos de óleo de tamanho variável foi detectada principalmente nas células dos tecidos parenquimáticos.

O início de processo de germinação se deu com a protrusão da raiz primária e posteriormente da parte aérea, sendo o inverso também observado, porém em menor proporção (Figura 14C e 14D). As plântulas avaliadas apresentaram padrão de desenvolvimento uniforme, com presença de um caule e uma raiz primária sem ramificações, emergindo dos pólos da amêndoa

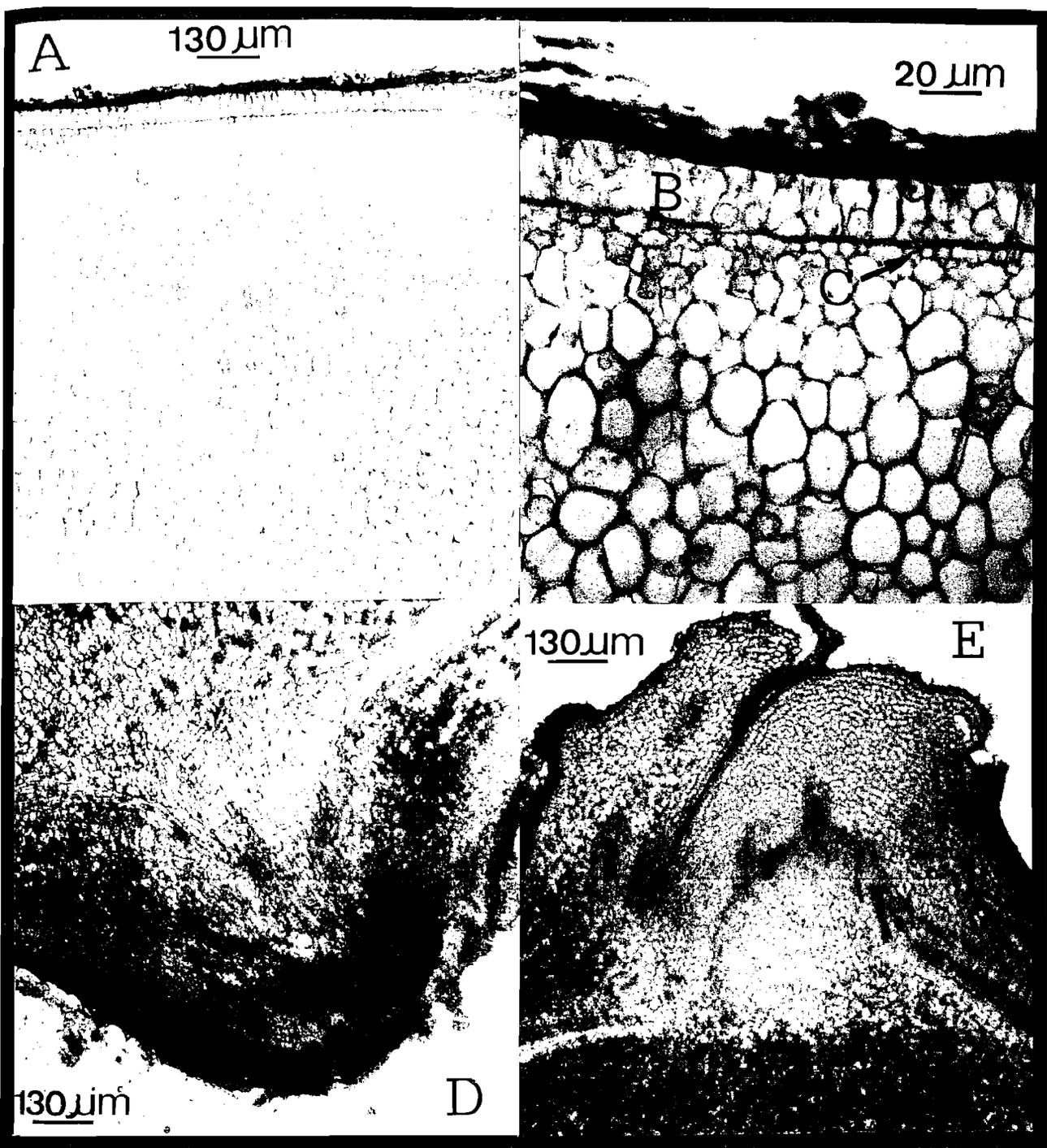


FIGURA 13. Secções transversais de amêndoas de castanheira-do-brasil. (A)- Corte evidenciando os seis tecidos distintos. (B)- Camada epidérmica e (C)- Primeira camada de células do tecido parenquimático. (D)- Calosidades originadas do tecido parenquimático, precedendo a protrusão de raiz e (E) epicótilo.

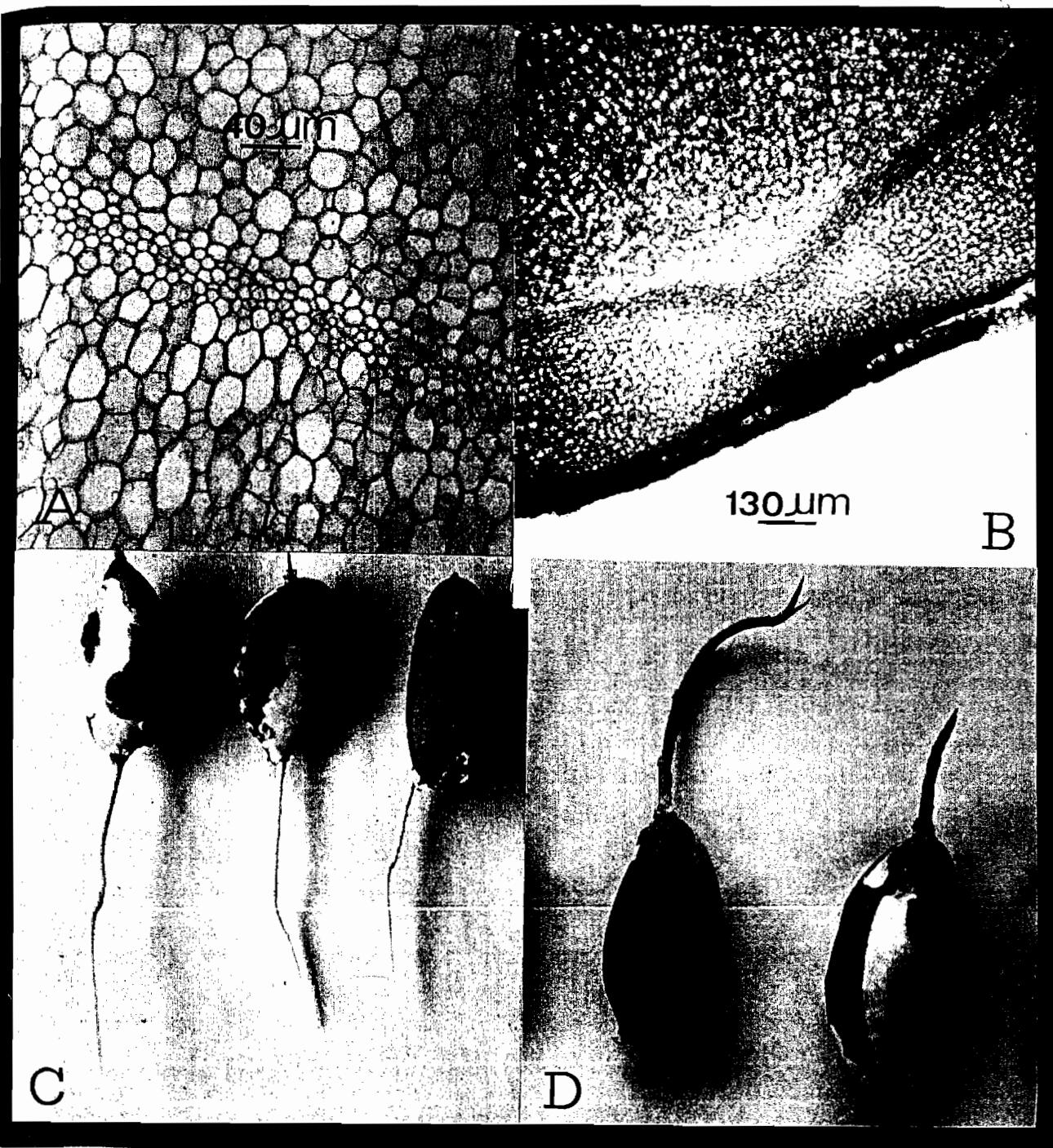


FIGURA 14. Secções transversais de amêndoas de castanheira-do-brasil, evidenciando o tecido meristemático, (A) e formação a partir deste, do meristema da raiz primária (B). Amêndoas de castanheira germinadas, demonstrando a protrusão da raiz primária (C) e parte aérea (D).

As secções transversais da raiz, demonstraram na região apical, a presença de estrutura primária, com rizoderme bisseriada, cortex, endoderme e os feixes de xilema e floema se alternando (Figura 15B). raiz, (B), amêndoas de castanheira germinadas, demonstrando a protrusão da raiz primária (C) e parte aérea (D).

Na região basal da raiz observa-se estrutura secundária com a presença do câmbio vascular formando um anel, que delimita o xilema no interior da raiz do floema na parte mais externa (Figura 15C). Tanto nos cortes como pela observação externa, não foi detectada a presença de pelos absorventes, o que indica que a absorção de água e sais se dá diretamente pelas células epidérmicas, justificando a ausência de cutícula ou paredes celulares espessadas na camada epidérmica (Figura 15D). Em todos os cortes efetuados na raiz, foi observada a presença de espaços intercelulares, formando grandes lacunas, que podem ser denominadas de aerênquimas. Segundo Esau (1974), estes espaços são característicos do córtex da raiz, podendo ser encontrados tanto em espécies de habitats úmidos como em regiões áridas.

Os cortes efetuados no caule demonstraram a presença de epiderme com tricomas simples unicelulares, parênquima cortical e medular e o câmbio, formando um tecido contínuo que separa os elementos vasculares de xilema para o interior dos elementos de floema para o exterior (Figura 16A). Nota-se no parênquima cortical a presença de inúmeros feixes corticais compostos por floema, câmbio interfascicular e xilema (Figura 16B), bem como a presença de tricomas e lenticelas (Figura 16C) no tecido epidérmico.

Os tecidos foliares apresentam estrutura semelhante à descrita por Medri e Lleras (1979), em mudas de castanheira com cerca de 30 centímetros de altura. A epiderme apresenta

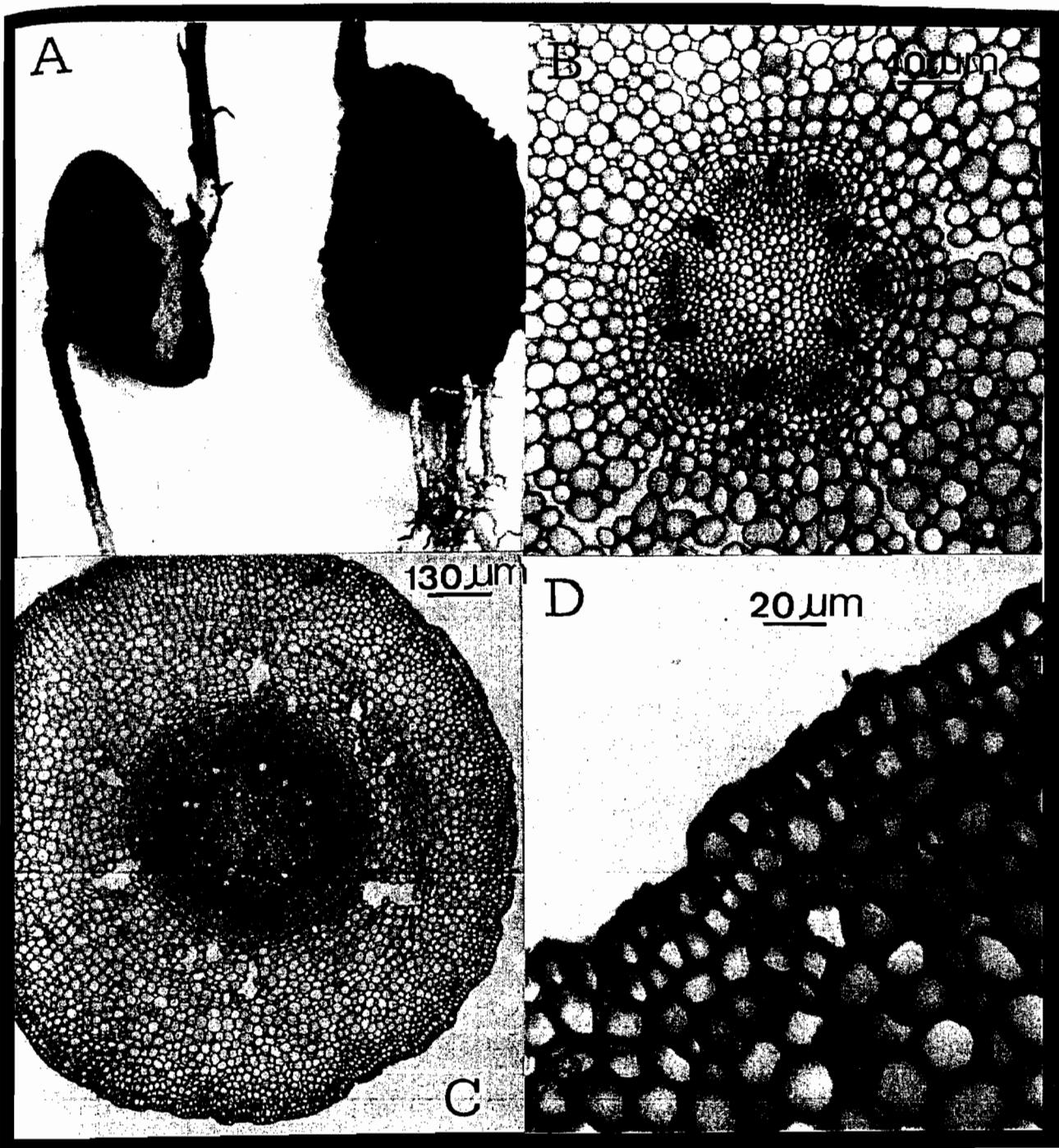


FIGURA 15. Anomalias observadas em amêndoas de castanheira-do-brasil germinadas (A). Cortes transversais na raiz primária de plântulas de castanheira, na região apical (B), na região basal (C) e com detalhe para a rizoderme (D).

cutícula delgada e tricomas simples unicelulares, mais numerosos na superfície abaxial. Os estômatos, estão presentes na superfície abaxial, em densidade média de 420 por  $\text{mm}^2$ . O tecido fundamental é composto por um parênquima paliádico unisseriado, abaixo da epiderme adaxial, e o parênquima lacunoso. Os feixes vasculares são mais desenvolvidos na nervura central, ocupando porção significativa da área do corte (Figura 16D).

A denominação exata dos tecidos que compõem as amêndoas, envolve estudos ontogenéticos e embriológicos, no entanto a descrição dos tecidos em diversas etapas do processo germinativo indica que a amêndoa da castanheira, no momento da maturação e dispersão da semente não apresenta tecidos em estágio avançado de diferenciação celular, como os que formam a plúmula, radícula e cotilédones, normalmente observados em sementes. A organização dos tecidos, indica que a denominação de embrião hipocotilar, parece ser a mais correta para esta espécie, pois a partir de tecidos meristemáticos pré-existentes se formam a parte aérea e a raiz primária.

A desuniformidade e o longo período requerido para a germinação da castanheira se deve possivelmente a necessidade de tempo para que ocorra o processo de embebição, ativação enzimática e diferenciação dos tecidos meristemáticos existentes na amêndoa, podendo este processo ser afetado pela grande quantidade de reservas do embrião e/ou por um balanço hormonal interno. Segundo Mayer e Shain (1975) em sementes oleaginosas, a germinação está ligada ao metabolismo de lipídeos, sendo este regulado entre outros fatores pela ação hormonal.

O êxito na regeneração da castanheira em condições naturais, depende entre outros fatores de tempo para que as sementes sejam dispersas e encontrem condições favoráveis à germinação. A existência de tecido meristemático circundando a amêndoa leva a crer que a semente tenha boa capacidade de regeneração, mesmo sofrendo danos mecânicos por predadores e dispersores ou ataque de patógenos.

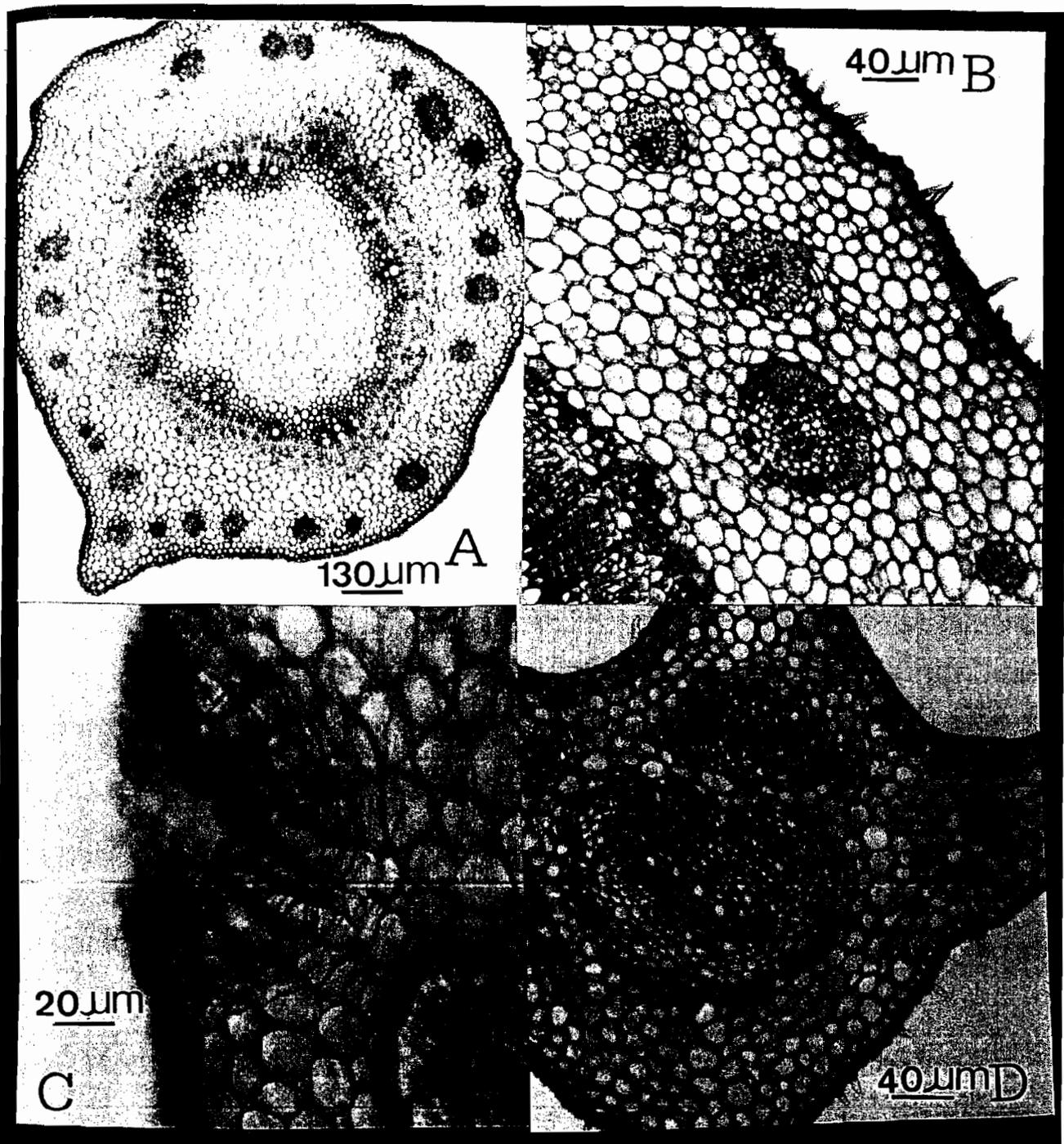


FIGURA 16. Cortes transversais do caule de plântulas de castanheira-do-brasil em região internodal (A), com detalhe para os feixes corticais (B) e lenticela (C) e corte transversal na região da nervura central da folha primária (D).

A estrutura anatômica das amêndoas, caule e folhas primárias indica a possibilidade de seu uso como fonte de explantes para estudos de propagação *in vitro*, através da cultura de tecidos vegetais, devido à significativa presença de tecidos meristemáticos e de tecidos parênquimáticos pouco especializados e com bom potencial para morfogênese.

## 6.4 CONCLUSÕES

A amêndoa ou embrião, da castanheira é composta principalmente por tecidos parenquimáticos delimitados por um anel de tecido meristemático, sendo estes envoltos por uma camada epidérmica e uma película lignificada.

O epicótilo e a raiz primária são formados a partir dos tecidos meristemáticos pré-existent, localizados preferencialmente nas regiões dos pólos caulinar e radicular.

A estrutura anatômica do embrião explica em parte o lento processo germinativo nesta espécie e se relaciona com o sucesso em sua dispersão em condições naturais.

## 6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRADAS, M.M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui), em várias fases de desenvolvimento. **Revista de Biologia**, Lisboa, v.9, n.1-4, p.69-93, 1973.
- BELTRATI, C.M. **Morfologia e anatomia de sementes**. Rio Claro: UNESP, 1990. 100p.
- CAMARGO, I.P. ; CARVALHO, M.L.M. ; VIEIRA, M. das G.G.C. Caracterização da viabilidade e da deterioração em amêndoas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bomp!) pelo teste de tetrazólio. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15. 1996. Gramado, **Anais...** Gramado: CESM/RS-FELAS, 1996. p. 19.

- CORNER, E.J.H. **The seeds of dycotiledons**. Cambridge. Cambridge University Press, 1976. v.1, 552p.
- CRESTANA, C.M. ; BELTRATI, C.M. Morfologia e anatomia das sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-caesalpinioideae). **Naturalia**, São Paulo, v.13, p.45-54, 1988.
- CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal: células e tecidos**. São Paulo: Rocca, 1986, 304p.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: EDUSP, 1974. 293p.
- JENSEN, W.A. **Botanical microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1962. 408p.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- MAUSETH, J. **Plant anatomy**. Menlo Park: Benjamin Cummings, 1988. 560p.
- MAYER, A.M. ; SHAIN, Y. Control of seed germination. **Annual Reviews of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 25, p.167-193, 1974.
- MEDRI, M.E. ; LLERAS, E. Ecofisiologia de plantas da amazônia. Anatomia foliar e ecofisiologia de *Bertholletia excelsa* Humb. ; Bonpl. (Castanha -do-Pará) - Lecythidaceae. **Acta Amazônica**, Manaus, v.9, n.1, p.15-23, 1979.
- MULLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em castanha-do-brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 16).
- MÜLLER, C.H. ; RODRIGUES, I.A. ; MÜLLER, A. A. ; MÜLLER, N.R.M. **Castanha-do-brasil: resultados de pesquisa**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1980. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Miscelânea, 2).
- PRANCE, G.T. ; MORI, S.A. Observations on the fruits and seeds of neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, New York, v.30, p.21-33, 1978

REIS, G.G. dos ; CARVALHO, J.E.U. ; MÜLLER, C.H. **Calibração do teste de tetrazólio para sementes de castanha-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1979. 9p. (EMBRAPA-CPATU. Comunicado Técnico, 17).

SASS, J. **Botanical microtechnique.** Iowa: Iowa College Press, 1951, 228p.

VAUGHAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds.** London: Chapman & Hall. 1970. 279p.

## 7 CAPÍTULO 6

### EFEITO DE SUBSTRATOS SOBRE O CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO

#### MINERAL DE MUDAS DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL

#### RESUMO

Mudas de castanheira-do-brasil são mantidas em viveiro por um período de quatro a dez meses até o plantio no campo. Nesta fase o substrato utilizado pode ser um fator determinante para bom desenvolvimento da muda. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes substratos sobre o crescimento e composição mineral de mudas de castanheira-do-brasil. Foram utilizados os substratos: 1-Mistura de solo argiloso, substrato comercial e casca de arroz carbonizada (SAC) na proporção de 1:1:1 ; 2-Mistura de solo argiloso, húmus de minhoca e casca de arroz carbonizada (SHC) na proporção de 1:1:1 ; 3-Mistura de húmus de minhoca e casca de arroz carbonizada (HC) na proporção de 2:1 ; 4- Substrato comercial composto de casca de pinus moída e compostada, vermiculita e fertilizantes (A). Os substratos SAC, SHC e HC foram fertilizados com 4 Kg de superfosfato simples e 4 Kg de calcário dolomítico por metro cúbico. Aos 9 meses após a repicagem as mudas cultivadas em substratos SAC e SHC apresentavam altura, diâmetro basal, número de folhas e matéria seca significativamente superiores do que as demais, e um teor médio de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn de respectivamente 16.0, 0.9, 13.7, 7.8, 2.6, 1.0 (g.kg<sup>-1</sup>), 44, 23, 104, 19 e 7 (mg.kg<sup>-1</sup>) estando aptas ao plantio do campo

## ABSTRACT

### EFFECT OF SUBSTRATES ON THE BRAZIL NUT SEEDLING GROWTH AND MINERAL COMPOSITION

Brazil nut seedlings are maintained in nurseries by a period of four to ten months during this period, the used substrates might be an important factor that determine seedling development. The objective of this work was to evaluate the effect of different substrates on the growth and mineral composition of brazil nut seedlings. Four substrates were tested: 1- Mixture of clayish soil, commercial substrate and carbonized rice shell (SAC) in the proportion of 1:1:1 ; 2- Mixture of clayish soil, earth-worm humus and carbonized rice shell (SHC) in the proportion of 1:1:1:1 ; 3- Mixture of earth-worm humus and carbonized rice shell (HC) in the proportion of 2:1 ; 4- Commercial substrate composed by ground and composted pinus bark, vermiculite and fertilizers. The substrates SAC, SHC e HC were fertilized with 4 Kg of single superphosphate and 4 Kg of dolomite lime per cubic meter. 9 months after transplanting, the seedlings cultivated in the SAC and SHC substrates showed higher height, basal diameter, leaf number and dry matter than the others and a media content of N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn of 16.0, 0.9, 13.7, 7.8, 2.6, 1.0 ( $\text{g.kg}^{-1}$ ), 44, 23, 104, 19 e 7 ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ). After this period these seedlings were ready for field planting.

#### 7.1 INTRODUÇÃO

A castanheira-do-brasil é uma espécie amazônica com grande valor econômico, por suas sementes oleaginosas, que apresentam segundo SUDAM (1976), cerca de 64% de óleo e

14% de proteínas. A farinha obtida da torta apresenta cerca de 50% de proteínas e pode ser usada, em mistura com a farinha de trigo, na confecção de bolachas e pães

A produção de mudas de castanheira-do-brasil, envolve a semeadura das amêndoas em areia e posterior repicagem das plântulas para sacolas plásticas no viveiro, aonde permanecerão por um período de 4 até 8 meses (Moreira 1994, Müller 1982). Na fase de viveiro as mudas crescem até apresentarem cerca 16 folhas abertas ou 20 a 40 cm de altura, quando estão aptas para o plantio no campo (Müller et al., 1995). O processo de enxertia nesta espécie é efetuado no campo, devido à exigência de diâmetro mínimo do caule de 2 cm a 20 cm do solo, o que segundo Clément (1993), torna importante estudos visando a possibilidade de enxertia em vaso.

Segundo Hartman e Kester (1975), os substratos para produção de mudas devem ter volume razoavelmente constante, quando seco ou úmido, boa capacidade de retenção de umidade, porosidade, sanidade, baixo nível de salinidade e boa disponibilidade de nutrientes.

Dentre os componentes utilizados na formulação de substratos para produção de mudas de diversas espécies, observa-se com frequência uso de solo argiloso, substratos comerciais, adubos orgânicos e casca de arroz carbonizada (Matos, Donadio e Banzato 1987, Caproni 1992, Salvador 1995).

Vários substratos tem sido recomendados para a produção de mudas de castanheira. Müller (1981) indica o uso de oito partes de terra vegetal e duas partes esterco de gado, já Müller (1982) recomenda o uso de diferentes medidas volumétricas de solo argiloso ou terra vegetal, com esterco curtido de gado ou galinha e serragem curtida. Para Moreira (1994), o substrato ideal para castanheira deve constituir-se de materiais capazes de proporcionarem rápido crescimento às plântulas, ser facilmente encontrado na região e ser econômico.

O uso de diferentes substratos pode proporcionar respostas em termos de crescimento de mudas, sendo que aquelas com maior porte e vigor, poderiam ser indicadas, para determinadas condições, como padrão de plantas normais. Segundo Malavolta (1980), a planta normal seria aquela que apresentasse em seus tecidos, todos os macro e micronutrientes em quantidades e proporções não limitantes para o crescimento e que poderiam ser utilizadas como padrão para avaliações de estado nutricional.

O efeito do substrato sobre o crescimento de mudas de castanheira-do-brasil, pode indicar a necessidade de maiores estudos, em cada região, para se selecionarem aqueles mais adequados. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes substratos sobre o crescimento e composição mineral de mudas de castanheira-do-brasil.

## 7.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no Departamento de Agricultura da UFLA. Sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl.) foram coletadas no município de Paranaitá, norte do estado de Mato Grosso em dezembro de 1994. As sementes foram imersas em água corrente por 48 horas, procedendo-se a retirada do tegumento lenhoso, tratamento anti-fúngico com imersão em solução a base de benomil a 0.2% do produto comercial por 90 minutos, seguindo-se da semeadura das amêndoas em areia, conforme recomenda Müller (1981).

Dois meses após a semeadura, as plântulas foram repicadas para recipientes de plástico rígido, vazados em baixo, do tipo usado para produção de mudas cítricas, com volume de 5,5 litros. Foram utilizados 4 tipos de substratos diferentes: 1-Mistura de solo argiloso, substrato comercial e casca de arroz carbonizada (SAC) na proporção de 1:1:1 ; 2-Mistura de solo argiloso, húmus de minhoca e casca de arroz carbonizada (SHC) na proporção de 1:1:1 ; 3-Mistura de

húmus de minhoca e casca de arroz carbonizada (HC) na proporção de 2:1 ; 4- Substrato comercial composto de casca de pinus moída e compostada, vermiculita e fertilizantes (A). Os substratos SAC, SHC e HC foram fertilizados com 4 Kg de superfosfato simples e 4 Kg de calcário dolomítico por metro cúbico.

Foram retiradas amostras dos substratos antes da repicagem, para avaliação de fertilidade. As análises foram efetuadas no Instituto de Química 'John H. Wheelock' do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, por métodos de rotina.

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com bordadura externa. Os tratamentos foram repetidos seis vezes, sendo utilizadas três mudas por parcela, totalizando 72 mudas úteis. As mudas foram mantidas em casa-de-vegetação com temperatura média de 25<sup>o</sup>C ( $\pm 3$ ), sob telado com sombreamento de 50% sendo efetuada irrigação duas vezes por semana, de forma a se manter os substratos com umidade constante.

Aos nove meses após a repicagem, avaliou-se o diâmetro do caule logo acima da inserção da amêndoa, o número de folhas maduras e a altura de plantas. As mudas foram coletadas, lavadas em água destilada e colocadas em estufa com aeração forçada a 70<sup>o</sup>C até atingirem peso constante, avaliando-se o peso de matéria seca de raízes e parte aérea, eliminando-se os restos da amêndoa. Na matéria seca da parte aérea foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn, segundo metodologia de Malavolta, Vitti e Oliveira (1989). As análises foram efetuadas no Laboratório de Análise de Tecidos Vegetais do Departamento de Química da UFLA. Os dados foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variâncias, análise de variância empregando-se o teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Os valores de número de folhas foram transformados pela fórmula  $\sqrt{x+1}$ .

### 7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de fertilidade efetuada nos substratos, demonstrou com base na Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (1973), que estes apresentavam altos teores de P, K, Ca, Mg e matéria orgânica, acidez média a fraca, sendo os teores de alumínio baixos, com exceção para o substrato comercial no qual o teor foi considerado alto (Tabela 9).

TABELA 9. Análise de fertilidade em substratos utilizados para produção de mudas de castanheira-do-brasil. UFLA, Lavras-MG, 1996.

Substratos	P	K	Ca	Mg	Al	S	B	Cu	Zn	Mn	Fe	pH	M.O
	mg . kg <sup>-1</sup>		m mol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>			mg . kg <sup>-1</sup>						%	
A	1023	900	10,0	17,7	1,1	124,8	3,60	7,7	39,0	19,6	5,3	5,8	36,0
HC	288	476	13,5	3,2	0,1	91,7	0,76	3,2	13,3	44,0	92,1	6,3	13,8
SHC	99	348	9,0	3,0	0,1	91,7	0,76	2,9	8,3	34,6	68,6	6,1	11,2
SAC	76	302	6,5	3,5	0,1	148,7	1,69	2,7	17,4	16,5	33,2	6,0	11,2

Os valores médios para o peso de matéria seca de raízes e parte aérea, diâmetro do caule, altura e número de folhas, encontram-se na Tabela 10. Os substratos SAC e SHC foram semelhantes entre si e significativamente superiores aos demais para todos os parâmetros avaliados, bem como o substrato HC foi superior ao substrato A. Estes resultados se devem possivelmente a efeitos deletérios ao sistema radicular, causados por algum tipo de toxidez, uma vez que aqueles com níveis mais altos de fertilidade proporcionaram menor crescimento às mudas.

As características físicas dos substratos também podem ter afetado o desenvolvimento das mudas, pois os substratos SHC e SAC apresentavam em sua composição um terço de solo argiloso e menor teor de matéria orgânica do que os substratos A e HC, e a irrigação foi constante

para todos os tratamentos. Segundo Whitmeyer e Blake (1989), diferenças nas propriedades físicas dos componentes de uma mistura resultam em características físicas finais marcadamente diferentes, sendo o componente orgânico um importante retentor de umidade.

TABELA10. Valores médios para os parâmetros de crescimento avaliados em mudas de castanheira-do-brasil produzidas em diferentes substratos, aos nove meses após a repicagem. UFLA, Lavras-MG, 1996.

Substratos	Altura	Diâmetro	Nº de folhas	Matéria seca de Raízes	Matéria seca de P. Aérea
	cm			g / planta	
A	6,7 c	0,26 c	5,2 c	0,34 c	0,29 c
HC	15,9 b	0,36 b	11,5 b	0,92 b	2,89 b
SHC	22,9 a	0,43 a	14,5 a	1,33 a	5,96 a
SAC	26,3 a	0,48 a	15,6 a	1,62 a	6,15 a
C. V. (%)	15,18	7,69	4,80	15,5	17,1

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A carência de dados experimentais sobre o crescimento de mudas de castanheira-do-brasil em fase de viveiro dificulta a comparação dos parâmetros de crescimento obtidos. As recomendações técnicas (Moreira 1994, Müller 1981, Müller et al. 1995) não indicam a necessidade de fertilização dos substratos, a não ser por Müller (1982), que indica a necessidade de fertilizações foliares no caso de se utilizar solo como substrato. Possivelmente a castanheira não necessite de altos níveis de fertilidade no substrato para apresentar bom crescimento inicial, uma vez que as amêndoas apresentam grande quantidade de reservas. Segundo Foster (1987), espécies com sementes grandes, apresentam bom crescimento inicial, mesmo em condições adversas, pois a reserva de nutrientes pode levar cerca de um ano para se extinguir.

As mudas produzidas nos substratos com solo, húmus e casca de arroz carbonizada e solo, substrato comercial e casca de arroz carbonizada, apresentaram médias de aproximadamente 25 cm e 15 folhas maduras aos nove meses após a repicagem, estando aptas ao plantio no campo, o que é um indicativo de que estes substratos se mostraram adequados à produção das mudas, permitindo o plantio destas no início do período das chuvas.

Os valores médios para os teores de macro e micronutrientes na matéria seca da parte aérea aos nove meses após a repicagem, encontram-se na tabela 11. As mudas produzidas nos substratos SAC e SHC apresentaram menores teores de N, P e K do que aquelas cultivadas em substrato comercial, possivelmente devido a um efeito de diluição e apresentaram um teor médio de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn de respectivamente 16,0, 0,9, 13,7, 7,8, 2,6, 1,0 ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 44, 23, 104, 19 e 7 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). A maiores diferenças na composição mineral da parte aérea entre plantas produzidas nos substratos SAC e SHC foi observada para o B e o Zn, o que possivelmente se deve a uma maior disponibilidade destes elementos no substrato SAC em relação ao SHC.

TABELA 11- Teores médios de macro e micronutrientes na matéria seca da parte aérea de mudas de castanheira-do-brasil, cultivadas em diferentes substratos. UFLA/Lavras, 1996.

Substratos	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
A	17,5ab	4,6a	19,7a	4,6b	2,2b	1,4a	60a	26a	81ab	67a	10a
HC	18,8a	1,5b	14,6b	9,8a	2,2b	0,8b	17b	24a	77b	25b	6b
SHC	16,3b	0,8c	13,7b	9,3a	2,4b	0,9ab	26b	25a	109a	18b	5b
SAC	15,8b	1,0c	13,7b	6,4b	2,9a	1,1ab	63a	21a	100ab	20b	9a
C.V.	7,6	15,2	9,3	18,9	9,7	31,0	24,0	16,8	18,7	22,0	18,3

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5%.

A composição mineral média da parte aérea nas mudas cultivadas nos substratos SHC e SAC, embora não possa ser considerada como padrão de plantas normais, segundo a definição de Malavolta (1980), poderiam ser utilizadas como padrão de comparação, para avaliações de estado nutricional em estudos futuros. As mudas com maior crescimento no período experimental apresentaram nos tecidos de parte aérea maiores teores de N, K, Ca, Mg, S, P, Fe, B, Cu, Mn e Zn, respectivamente.

O efeito dos substratos utilizados, sobre o crescimento das mudas de castanheira-do-brasil aos nove meses após a repicagem, pode ser visualizado na Figura 17. A diferença no crescimento das mudas causada pelos substratos, indica que mais estudos devem ser efetuados, em cada região produtora para se selecionarem dentre os substratos disponíveis, aqueles que proporcionem maior crescimento às mudas. Ao mesmo tempo devem ser efetuados estudos com diferentes níveis de fertilização, volumes e tipos de recipiente, no sentido de se obter rápido crescimento e até possibilitar a enxertia em mudas envasadas.

#### 7.4 CONCLUSÕES

Mudas de castanheira-do-brasil, apresentaram crescimento diferenciado em resposta à variação no tipo de substrato.

Os substratos compostos por solo, húmus de minhoca ou substrato comercial e casca de arroz carbonizada nas proporções de 1:1:1 proporcionaram maior crescimento às mudas de castanheira-do-brasil, estando estas aptas ao plantio no campo, nove meses após a repicagem.

Mudas de castanheira-do-brasil com maior crescimento na fase de viveiro apresentaram na parte aérea maiores teores de N, K, Ca, Mg, S, P, Fe, B, Cu, Mn e Zn respectivamente.



FIGURA 17. Mudras de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl), produzidas nos substratos SAC, SHC, HC e A (da esquerda para a direita), aos nove meses após a repicagem.

## 7.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPRONI, A.L. Efeitos de tamanho, potenciais hídricos e substratos na germinação de sementes e produção de mudras de *Eucaliptus grandis* e *Eucaliptus citriodora*. Lavras, UFLA, 1992. 82p. (Tese de Mestrado).

CLEMENT, C.R. Brazil nut. In: CLAY, J.W. ; CLEMENT, C.R. **Selected species and strategies to enhance income generation from amazonian forests**. Rome: FAO, 1993. p.115-127.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 4º aproximação**.Lavras, 1989, 179p.

- FOSTER, s.a. On the adaptative value of large seeds for tropical moist forest trees: a review and synthesis. **The Botanical Review**, New York, v.52, n.3, p.260-299. 1987.
- HARTMAN, H.T. ; KESTER, D.E. **Plant propagation principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 1975. 661p.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de Nutrição Mineral de Plantas**. São Paulo: Ceres, 1980. 251p.
- MALAVOLTA, E. ; VITTI, G.C. ; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional de plantas**, Piracicaba: Potafos, 1989. 201p.
- MATOS, P.P de ; DONADIO, L.C. ; BANZATO, D.A. Efeito de diferentes substratos sobre o desenvolvimento de tres porta-enxertos de citros em recipientes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. 9. Campinas: SBF, 1987. **Anais...** Campinas. 1988. p. 351-354.
- MOREIRA, P. **Recomendações técnicas para produção de mudas de Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* HBK)**. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF/Acre, 1994. 25p. (EMBRAPA-CPAF/Acre. Documentos 18).
- MÜLLER, C.H. **Castanha-do-Brasil, estudos agronômicos**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1981. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos 1)
- MÜLLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em Castanheira-do-Brasil**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40P.( EMBRAPA-CPATU. Documentos 16).
- MÜLLER, C.H. ; FIGUEIREDO, F. J. C. ; KATO, A. K. ; CARVALHO, J. U. ; STEIN, R. L. B.; SILVA, A. de B. **A cultura da castanha-do-brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995. 65p.
- SALVADOR, E.D. **Efeito de diferentes substratos no crescimento e desenvolvimento de samambaia matogrossense (*Polipodium aureum*)**. Lavras, UFLA, 1995. 64p. (Tese Mestrado)
- SUPERINTENDÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA. **Estudos e pesquisas sobre a castanha-do-pará**. Belém: SUDAM. 1976.100p.

WHITMEYER, R.W. ; BLAKE, G.R. Influence of silt and clay on the physical performance of sand-soil mixtures. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p.5-12, 1989.

## 8 CAPÍTULO 7

### CULTIVO *IN VITRO* DE TECIDOS DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL

#### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estabelecimento *in vitro* e o potencial de morfogênese de tecidos de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.). Foram utilizados como explantes segmentos foliares, segmentos nodais de mudas e segmentos de amêndoas. O cultivo *in vitro* de segmentos foliares, visou selecionar tipos de explante e de reguladores de crescimento adequados para a obtenção e manutenção de calos. Foi utilizado o meio de cultura MS suplementado com 2,4 D e BAP. Os calos produzidos foram repicados para diversos meios de cultura. O cultivo *in vitro* de segmentos nodais de caule, teve por objetivo contornar problemas de oxidação e contaminação dos explantes. Os segmentos foram submetidos a 13 tratamentos visando contornar os problemas de oxidação e a sete tratamentos visando contornar problemas de contaminação. O cultivo *in vitro* de segmentos de amêndoas, visou avaliar o comportamento deste tipo de explante em meio de cultura MS suplementado com ANA e BAP. Foram utilizados segmentos de amêndoas contendo o quarto apical (pólo caulinar) e a parte mediana interna. A formação de calos foi obtida a partir de segmentos foliares jovens, em meio suplementado com 2,26  $\mu\text{M}$  de 2,4D e 8,88  $\mu\text{M}$  de BAP, sendo este calos repicado por até cinco vezes no mesmo meio de cultura. Segmentos nodais apresentaram intensa oxidação

fenólica, contornada pela transposição em meios de cultivo MS ou WPM a cada 24 horas por três vezes. O uso de álcool associado ao hipoclorito de sódio proporcionou melhor assepsia dos explantes. Estes apresentaram formação de calos em meio, suplementados com BAP e AIB nas concentrações de respectivamente 8,88 e 2,46  $\mu\text{M}$ . Segmentos apicais de amêndoas apresentaram bom potencial para cultivo *in vitro*, formando calos e brotações, independente do uso de reguladores de crescimento no meio de cultura.

### ***IN VITRO* TISSUE CULTURE OF BRAZIL NUT**

#### **ABSTRACT**

The objective of this work was evaluate the *in vitro* establishment and the morphogenesis potential of brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) explants. Leaf explants, nodal segments and portion of kernels were used. The objective of the *in vitro* culture of leaf explants was to select the adequate explant and growth regulators suitable for callus induction and maintenance. MS medium supplemented with 2,4 D e BAP was used. The *in vitro* culture of nodal segments had the objective to solve the constrain imposed by the explants contamination and oxidation. The segments were submitted to different treatments and culture media. The *in vitro* culture of kernel portions had the objective to evaluate the behavior of this type of explant in MS medium supplemented with ANA and BAP. A quarter apical portion of kernels and a median internal portion was used. Callus was obtained from young leaf tissues and subcultured up to five times in medium supplemented with 2,26  $\mu\text{M}$  2,4D and 8,88  $\mu\text{M}$  BAP. Nodal segments showed expressive phenolic oxidation, which was controled throug sucessive MS or WPM medium changes at 24 h. intervals for tree times. The use of ethanol associated with sodium hipoclorite

provided a better explant desinfestation. This explant showed callus formation in medium supplemented with 8,88  $\mu\text{M}$  BAP and 2,46  $\mu\text{M}$  AIB. The apical portion of kernels showed good potential for *in vitro* culture, forming callus and shoots independently of the addition of growth regulators in the medium.

## 8.1 INTRODUÇÃO

O processo de colonização da região amazônica tem levado a uma exploração predatória da castanheira-do-brasil (Kitamura e Müller, 1984; Lisboa, Maciel e Prance 1991 e Camargo e Macedo 1994), trazendo sério risco de erosão genética para esta espécie.

O plantio racional da castanheira, quer seja para produção de sementes ou madeira, ainda é pequeno em face da grande disponibilidade de área e do potencial da região amazônica. Mesmo com o domínio das técnicas de propagação vegetativa (Müller, 1982), existe pouca disponibilidade de plantas matrizes selecionadas para o fornecimento de gemas para enxertia, bem como pouca oferta de mudas.

A autoincompatibilidade predominante na castanheira (Moritz 1984), sugere a ocorrência de grande variabilidade genética e ganhos consideráveis na produção de madeira e sementes, a partir da seleção de matrizes e formação de bancos de germoplasma regionais para o fornecimento de material de propagação

As técnicas de cultura de tecidos vegetais envolvem o cultivo asséptico de tecidos, órgãos ou células, sua multiplicação e o restabelecimento da planta completa (Murashige 1974). Segundo este autor, estas técnicas tem grande aplicação no melhoramento genético e propagação clonal rápida de espécies selecionadas, mas exigem a manutenção de condições ótimas quanto à

sanidade do explante, seleção do meio de cultura ideal e manutenção de condições ambientais adequadas.

Para Bajaj (1986), estas técnicas são de grande importância pela possibilidade de conservação de material genético de árvores raras, de elite ou que estejam ameaçadas de extinção, no entanto tem se observado melhores resultados a partir de mudas ou plantas juvenis. Segundo Jones (1991), a aplicação da cultura de tecidos em plantas lenhosas inicialmente obteve pouco sucesso, se restringindo aos estudos com sementes e explantes de mudas, sendo que atualmente, estas técnicas tem sido utilizadas com êxito em explantes oriundos de plantas adultas.

A propagação *in vitro* da castanheira pode se tornar uma ferramenta importante para viabilizar o resgate de germoplasma ameaçado, facilitando seu intercâmbio e preservação, bem como pode possibilitar a produção massal de mudas.

No primeiro relato encontrado sobre cultura de tecidos em castanheira, Toledo et. al., (1993), obtiveram pouco crescimento em segmentos de caule cultivados em meio MS líquido com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> BAP e obtiveram calos em meio sólido com uso de 2,4D, porém apresentaram pouca descrição sobre o tipo de explante e metodologia adotados.

Estudos sobre o comportamento de tecidos de castanheira *in vitro*, efetuados a partir de explantes juvenis, podem proporcionar o estabelecimento de protocolos que permitam a produção massal de mudas, bem como podem facilitar trabalhos futuros, visando resgate de germoplasma com uso de explantes oriundos de plantas adultas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento *in vitro* de explantes oriundos de amêndoas e mudas de castanheira-do-brasil, quanto ao estabelecimento e potencial de morfogênese.

## 8.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram instalados no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da UFPA. Sementes de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) foram coletadas no município de Paranaíta e Alta Floresta, norte do estado de Mato Grosso durante os meses de dezembro de 1994 e 1995.

As mudas foram produzidas em sementeira com areia previamente desinfestada, de acordo com metodologia descrita por Müller (1982), e mantidas em casa-de-vegetação com temperatura média de  $25^{\circ}\text{C} \pm 3$  sob telado com redução de 50% da luminosidade. Estas foram pulverizadas quinzenalmente com fungicida a base de benomyl a 1% do produto comercial durante o período de retirada de explantes. As sementes foram mantidas em câmara seca e fria a  $10^{\circ}\text{C} \pm 2$  e 50% de umidade relativa por período de quatro meses até sua utilização.

Foram utilizados como explantes segmentos foliares e segmentos nodais de mudas com três a seis meses de idade e segmentos de amêndoas, obtidas após a retirada do tegumentos das sementes. Os explantes foram lavados em água corrente com detergente, antes de sofrerem o processo de desinfestação.

A desinfestação e inoculação dos explantes foram efetuadas em câmara de fluxo laminar, sendo adotadas todas normas de assepsia, usuais em trabalhos de cultura de tecidos. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com luminosidade controlada e temperatura média de  $25^{\circ}\text{C} (\pm 3)$ .

No preparo dos meios de cultura, com exceção para a sacarose, foram utilizados produtos puros para análise, sendo o pH ajustado para 5,8 com auxílio de NaOH e/ou HCl a 0,5 e 0,1 N. Os meios foram esterilizados em autoclave com pressão de  $1,0 \text{ Kg/cm}^2$  e temperatura de  $120^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos.

Nas avaliações finais dos experimentos, os dados de contagem de explantes foram transformados para percentagem e em seguida usando a fórmula  $\sqrt{x+1}$  e foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variâncias, análise de variância pelo teste F ao nível de 1 e 5%, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### 8.2.1 Cultivo de tecidos foliares

Os estudos com cultivo *in vitro* de segmentos foliares, visaram a seleção do tipo de explante e de reguladores de crescimento, adequados para a obtenção e manutenção de calos.

Foram utilizados como explantes, segmentos de formato retangular com aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup> de área, provenientes de folhas maduras, de cor verde escura e aspecto coriáceo e de folhas jovens de coloração arroxeadas a verde claro, contendo a nervura central. As folhas foram retiradas de mudas de castanheira com dois a quatro meses após a germinação.

As folhas foram coletadas, aparadas e submetidas a desinfestação superficial com imersão em solução de álcool etílico a 80% por um minuto, seguido de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 30% (v/v) de produto comercial por vinte minutos e de lavagens em água destilada autoclavada por cinco vezes.

No primeiro experimento foi utilizado o meio de cultura MS, descrito por Murashige e Skoog (1962), solidificado com ágar na proporção de 6,5 gL<sup>-1</sup>. Ao meio foram adicionados a auxina Ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) nas concentrações de 2,26; 4,52; 9,05 e 18,10 µM, a citocinina Benzilaminopurina (BAP), nas concentrações de 0; 2,22; 4,44 e 8,88 µM e o antioxidante Polivinilpirrolidone (PVP-40), a 20 mgL<sup>-1</sup>. Os explantes foram mantidos na ausência de luz em tubos de ensaio de 2,5 x 15 cm, contendo 10 ml de meio cada.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro concentrações de 2,4 D e BAP, totalizando 16 tratamentos. Cada parcela foi composta por cinco tubos, sendo adotadas quatro repetições. O experimento foi repetido para os dois tipos de explantes. Aos 50 dias após a inoculação foram computados os valores de percentagem de explantes escurecidos e mortos e de explantes que apresentaram formação de calos.

No segundo experimento, efetuado nas mesmas condições ambientais, calos foram produzidos a partir de tecidos foliares em meio MS suplementado com 2,26  $\mu\text{M}$  de 2,4 D, 8,88  $\mu\text{M}$  de BAP e 200  $\text{mgL}^{-1}$  de PVP-40. Após 40 dias estes foram seccionados em quatro pedaços de tamanhos uniformes e repicados para cinco meios de cultura diferentes. Foram utilizados os meios: 1- MS básico sem reguladores de crescimento, 2- MS suplementado com água de côco a 20% (v/v) de produto comercial, 3- MS suplementado com BAP a 8,88  $\mu\text{M}$ , 4- MS suplementado com 2,4 D a 2,26  $\mu\text{M}$ , 5- MS suplementado com BAP e 2,4D, a 8,88 e 2,26  $\mu\text{M}$  respectivamente. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (meios de cultura) e cinco repetições, sendo a parcela composta de cinco explantes. Estes foram mantidos em frascos de 10 x 7 cm, contendo 30 ml de meio.

Aos 30 dias após a repicagem, foram computados os valores de percentagem de calos que apresentavam crescimento ativo em toda a superfície do calos.

### **8.2.2 Cultivo de segmentos caulinares**

Os estudos com cultivo *in vitro* de segmentos nodais de caule, visaram contornar problemas de oxidação e contaminação dos explantes, bem como observar o comportamento destes em meio de cultura.

Foram utilizados como explantes segmentos de caule contendo dois nós, com aproximadamente 3 cm de comprimento por 0,3 cm de diâmetro, retirados de mudas de castanheira com dois a seis meses após a germinação. As mudas foram desfolhadas aos sete dias antes da retirada dos explantes. Algumas mudas foram cobertas com um cone de polietileno de cor preta para evitar a entrada de luz 15 dias antes da retirada dos explantes.

Os segmentos nodais foram desinfestados com imersão em álcool etílico a 80% por tres minutos, seguido de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 30% (v/v) de produto comercial por vinte minutos e de lavagens em água destilada autoclavada por cinco vezes.

No primeiro experimento, os segmentos foram submetidos a 13 tratamentos visando contornar os problemas de oxidação. Os tratamentos foram: 1- Explantes oriundos do escuro, inoculados em meio MS; 2- Explantes normais inoculados em meio MS; 3- Uso de meio MS com a metade da concentrações de sais; 4-Uso de meio WPM, seguindo metodologia descrita por McCowm e Lloyd (1980), solidificado com adição de ágar a  $6,5 \text{ gL}^{-1}$ ; 5- Meio MS com adição de PVP-40 a  $200 \text{ mgL}^{-1}$ ; 6- Adição de PVP-40 a  $400 \text{ mgL}^{-1}$ ; 7- Adição de PVP-40 a  $800 \text{ mgL}^{-1}$ ; 8- Meio MS com adição de carvão ativado a 0,5%; 9- Adição de carvão ativado a 1,0%; 10- Adição de carvão ativado a 1,5%; 11- Meio MS com transposição de meio a cada 24 horas por tres vezes; 12- Meio WPM líquido com transposição de meio a cada 24 horas por tres vezes; 13- Explantes mantidos por 24 horas em água corrente e inoculados em meio MS. Os meios de cultura foram suplementados com BAP e AIB nas concentrações de respectivamente 8,88 e  $2,46 \mu\text{M}$ .

Os explantes foram mantidos em tubos de ensaio de 2,5 x 15 cm, com 10 ml de meio cada. Os explantes inoculados em meio líquido foram mantidos em suporte de papel de filtro com um furo no meio para a fixação do segmento. Os tubos foram mantidos sob fotoperíodo de 16 horas/luz, com intensidade luminosa de aproximadamente 2.000 lux.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 13 tratamentos, sendo adotadas quatro repetições e cinco explantes por parcela. Aos 30 dias após a inoculação foram computados os valores de percentagem de explantes escurecidos ou mortos, de contaminação e de explantes com calos e brotação.

No segundo experimento foram avaliados sete tratamentos de desinfestação de explantes. Sendo eles: 1- Lavagem em água destilada autoclavada por cinco vezes; 2- Imersão em solução de hipoclorito de sódio a 30% (v/v) de produto comercial por 10 minutos; 3- Imersão em solução de hipoclorito de sódio por 20 minutos; 4- Imersão em solução de hipoclorito de sódio por 40 minutos; 5- Imersão em álcool etílico a 80% por tres minutos, seguido de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 30% (v/v) de produto comercial por 10 minutos; 6- Imersão em álcool etílico a 80% e hipoclorito de sódio por 20 minutos; 7- Imersão em álcool etílico a 80% e hipoclorito de sódio por 40 minutos.

Os meios de cultura (MS), foram suplementados com BAP e AIB nas concentrações de respectivamente 8,88 e 2,46  $\mu\text{M}$ , sendo os explantes mantidos em tubos de ensaio de 2,5 x 15 cm, com 10 ml de meio cada e nas mesmas condições ambientais do experimento anterior. Foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos, quatro repetições e cinco explantes por parcela. Aos 30 dias após a inoculação foram computados os valores de percentagem de explantes contaminados.

A identificação dos agentes contaminantes foi efetuada na Clínica Fitossanitária do Departamento de Fitossanidade da UFLA.

### 8.2.1 Cultivo de segmentos de amêndoas.

Os estudos com cultivo *in vitro* de segmentos de amêndoas, visaram avaliar o comportamento deste tipo de explante sob efeito de auxina e citocinina. Foram utilizados segmentos de amêndoas contendo o quarto apical (pólo caulinar) e segmentos de formato cúbico da parte mediana interna, com aproximadamente 0,7 cm de aresta.

Os explantes foram desinfestados com imersão em álcool etílico a 80% por tres minutos, seguido de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 30% (v/v) de produto comercial por vinte minutos e de lavagens em água destilada autoclavada por cinco vezes.

Ao meio foram adicionados a auxina Ácido naftalenoacético (ANA) nas concentrações de 0, 2,68; 5,37 e 10,74  $\mu\text{M}$ , e a BAP, nas concentrações de 0; 2,22; 4,44 e 8,88  $\mu\text{M}$ . Os explantes foram mantidos em tubos de ensaio de 2,5 x 15 cm, contendo 10 ml de meio cada, sob fotoperíodo de 16 horas/luz, com intensidade luminosa de aproximadamente 2.000 lux.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro concentrações de ANA e BAP, totalizando 16 tratamentos. Cada parcela foi composta por cinco tubos, sendo adotadas quatro repetições. O experimento foi repetido para os dois tipos de explantes. Aos 60 dias após a inoculação foram computados os valores de percentagens de explantes contaminados, brotados e com formação de calos.

## 8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A obtenção de calos a partir de segmentos foliares, somente foi observada em tecidos oriundos de folhas jovens. Os explantes obtidos de folhas maduras, apresentaram 100% de escurecimento do meio de cultura, possivelmente devido a oxidação de compostos fenólicos

exsudados ao meio. Estes explantes se apresentavam escurecidos e mortos já a partir do quarto dia de cultivo. Nos explantes de folhas jovens a taxa de explantes oxidados foi em média de 50%. Estes resultados indicaram que a dosagem de PVP a  $20\text{mgL}^{-1}$ , indicada por Carvalho (1988) para explantes de eucalipto, não foi eficiente para segmentos foliares de castanheira. Este problema foi contornado utilizando-se PVP a  $200\text{mg.L}^{-1}$ , nos meios utilizados posteriormente para obtenção de calos.

A formação de calos em tecidos de folhas jovens, foi observada a partir do décimo quinto dia de cultivo, principalmente a partir da nervura central (Figura 18A). Sita e Swamy (1993), também observaram a formação de calos em *Populus* spp a partir da nervura central. A presença de feixes vasculares com tecido cambial bem desenvolvido na nervura central de folhas jovens de castanheira (Figura 16D), possivelmente facilitou a proliferação de células nesta região. Houve efeito significativo do uso de 2,4D e BAP sobre a taxa de explantes que produziram calos ao final de 50 dias de cultivo (Figura 19), porém não houve interação significativa entre os reguladores de crescimento. A concentração de BAP a  $8,88\ \mu\text{M}$ , proporcionou taxas de formação de calos significativamente superiores às demais.

A maior taxa de formação de calos foi obtida em meio suplementado com  $2,26\ \mu\text{M}$  de 2,4D e  $8,88\ \mu\text{M}$  de BAP, com 80 % de explantes com formação de calos. Em jaqueira, Amin e Jaiswal (1993), observaram intensa proliferação de calos em meio suplementado com  $9\ \mu\text{M}$  de BAP. O efeito marcante de citocininas na indução de calos também foi evidenciado em segmentos foliares de albizia (Lakshmana e Deepesh 1987) e de caqui (Tao e Sugiura 1992). Segundo Metivier (1986), a propriedade mais comumente associada às citocininas é o estímulo à divisão celular, sendo a BAP uma das citocininas sintéticas mais ativas.

Calos obtidos de segmentos foliares em meio suplementado com  $2,26 \mu\text{M}$  de 2,4D e  $8,88 \mu\text{M}$  de BAP foram repicados com sucesso neste mesmo meio de cultura por até cinco vezes, sendo que de 150 explantes iniciais foi observado em um calos formado, a regeneração de raiz (Figura 18B). A estrutura anatômica desta raiz (Figura 18C), demonstrou semelhança à estrutura de raiz originada diretamente do embrião, descrita no capítulo 5. A taxa de crescimento dos calos repicados, foi semelhante para os meios contendo reguladores de crescimento e água de côco, sendo significativamente superiores ao meio sem reguladores (Figura 20). A maior taxa média de calos com crescimento, foi obtida na repicagem para o mesmo meio de indução, apresentando em média 76 % de calos com crescimento ativo. Calos obtidos após a quinta repicagem, com 40 dias de intervalo médio, apresentavam-se pouco friáveis e com aspecto vitrificado (Figura 18D), o que pode ter sido causado pelo longo tempo de exposição à citocinina. A vitrificação pode ser causada por um desbalanço entre as altas taxas de divisão celular, e a diferenciação, afetando principalmente a síntese de lignina, o que segundo Phan (1991), pode ocorrer pela adição de BAP ao meio de cultura.

Os estudos efetuados demonstraram que segmentos foliares apresentam potencial para produção de calos, chegando-se a observar organogênese em um explante. Novos estudos devem ser efetuados no sentido de se obter calos com maior potencial para organogênese.

Os segmentos nodais inoculados, apresentaram oxidação fenólica, com escurecimento do meio de cultura a partir da base dos explantes e dos próprios explantes. Esta foi contornada em parte, pelos tratamentos efetuados (Figura 21). Houve efeito significativo destes, sendo os melhores resultados obtidos para os tratamentos 11 e 12, em que se efetuou a transposição em meios de cultura MS sólido e WPM líquido a cada 24 horas por tres dias consecutivos. Nestes se observou ao final de 30 dias de cultivo uma média de 10% de explantes escurecidos ou mortos em contraste com taxa média de 60% para explantes inoculados diretamente em meio MS.

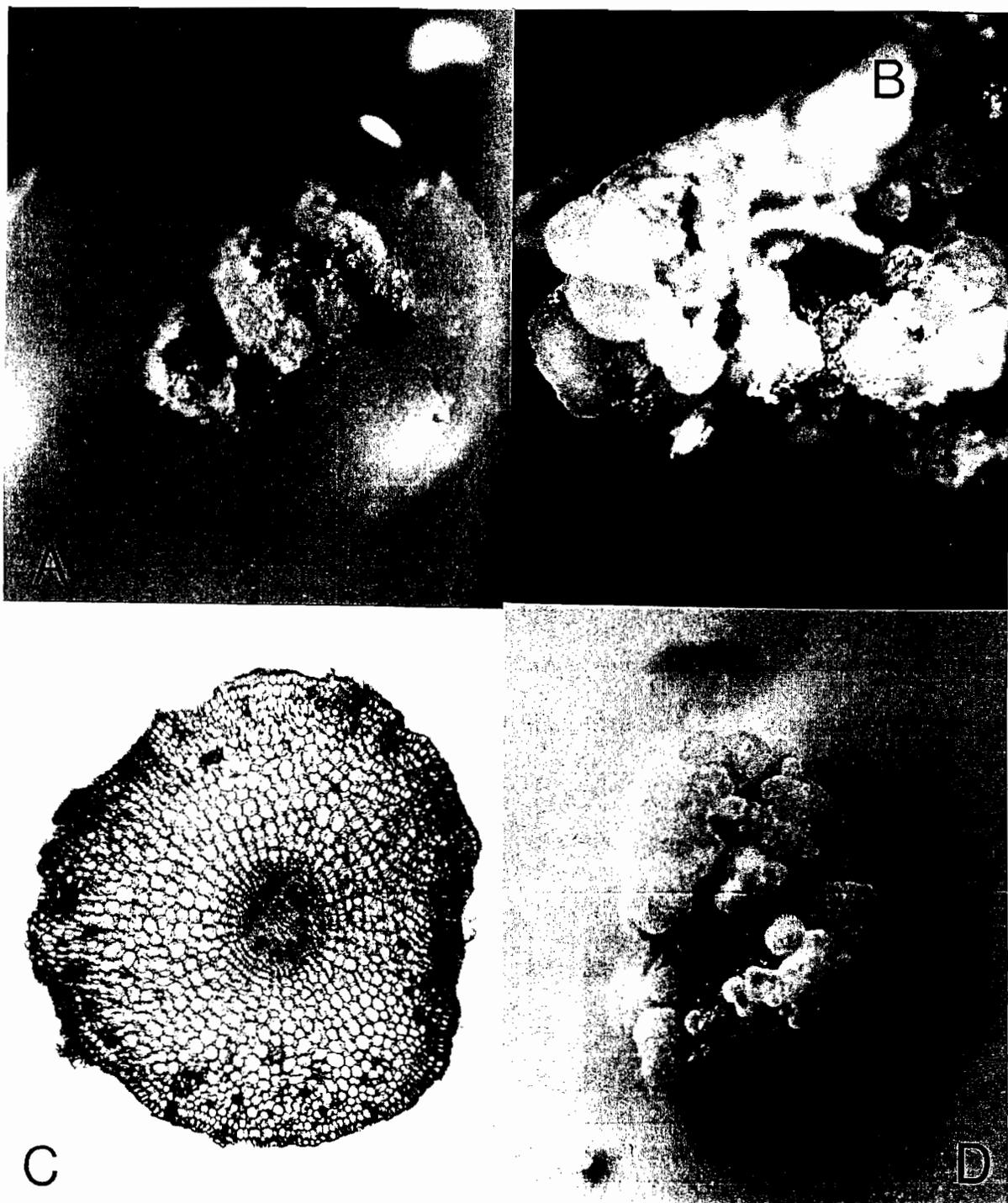


FIGURA 18. (A) - Formação de calos a partir da nervura central de segmentos foliares. (B) - Regeneração de raiz a partir de calos. (C) - Secção transversal de raiz regenerada. (D) - Calos pouco friáveis e com aspecto vitrificado obtidos após a quinta repicagem.

A redução da oxidação fenólica tem sido observada em segmentos nodais de diferentes espécies lenhosas, pela redução na concentração de sais do meio (Biasi, Koller e Kampf, 1994), pela redução da intensidade luminosa da fonte de explantes (Marks e Simpson, 1990), pela adição de antioxidantes ao meio (Gupta et al., 1980), sendo que a transposição de explantes para novo meio de cultura foi o melhor tratamento empregado por Gill e Gill (1994), para contornar a oxidação fenólica em *Eucaliptus*. Ao final de 30 dias de cultivo foi observado em média, cerca de 20% dos explantes com contaminação fúngica ou bacteriana, cerca de 3,5% de explantes com brotação na gema apical (Figura 22A) e cerca de 50% dos explantes com formação de calos. Os calos formados, possivelmente devido ao efeito do uso de BAP no meio de cultura, eram originados a partir do crescimento de tecidos da base do segmento e também apareciam em toda extensão do segmento, formando calos de aspecto filiforme (Figura 22B 22C). A partir de cortes histológicos foi observado que este tipo de calos tinha origem do parênquima cortical (Figura 22D). Lee e Rao (1986), também observaram a formação de calos em segmentos nodais de *Fagraea* como resultado do uso de citocininas ao meio de cultura.

Os estudos de desinfestação de segmentos, demonstraram superioridade dos tratamentos em que se usou álcool associado ao hipoclorito (Figura 23). Estes apresentaram em média 20% de explantes contaminados. Estudos efetuados por Biasi, Koller e Kampf (1994), em segmentos nodais de abacateiro, também demonstraram a superioridade do uso de álcool associado ao hipoclorito, para a assepsia dos explantes. Os agentes causais da contaminação foram fungos do gênero *Penicillium* e *Cladosporium* e principalmente bactérias saprófitas não identificadas, endógenas aos tecidos.

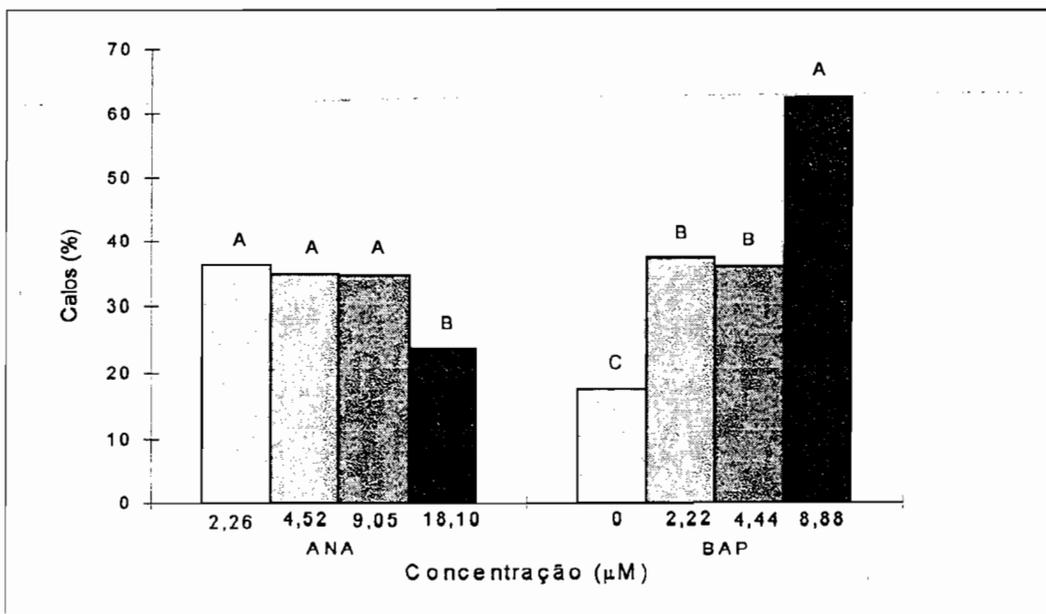


FIGURA 19. Efeito de 2,4D e BAP sobre a percentagem de explantes foliares que produziram calos aos 50 dias após o início de cultivo. Concentrações seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

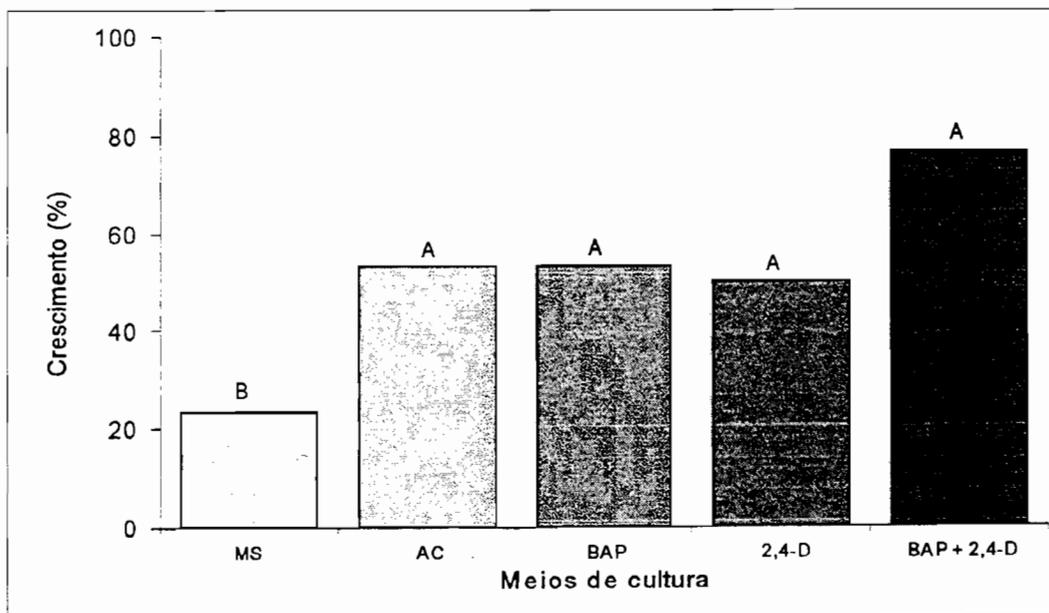


FIGURA 20. Efeito de meios de cultura de Murashige e Skoog (1962), básico (MS) e deste suplementado com 20% de água de côco (AC), 8,8 μM de BAP (BAP), 2,26 μM de 2,4D (2,4D) e com BAP e 2,4D a 8,8 e 2,26 μM respectivamente (BAP+2,4D), sobre explantes foliares. Meios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Estes estudos demonstraram que segmentos nodais de mudas de castanheira apresentam potencial para uso como fonte de explantes visando a produção de porta enxertos. Após 30 dias de cultivo foi observado um aumento no número de segmentos brotados. Novos estudos devem ser efetuados, com diferentes meios de cultura e reguladores de crescimento, com objetivo de se maximizar a obtenção de brotações, minimizar a formação de calos e de se obter enraizamento de segmentos e brotações.

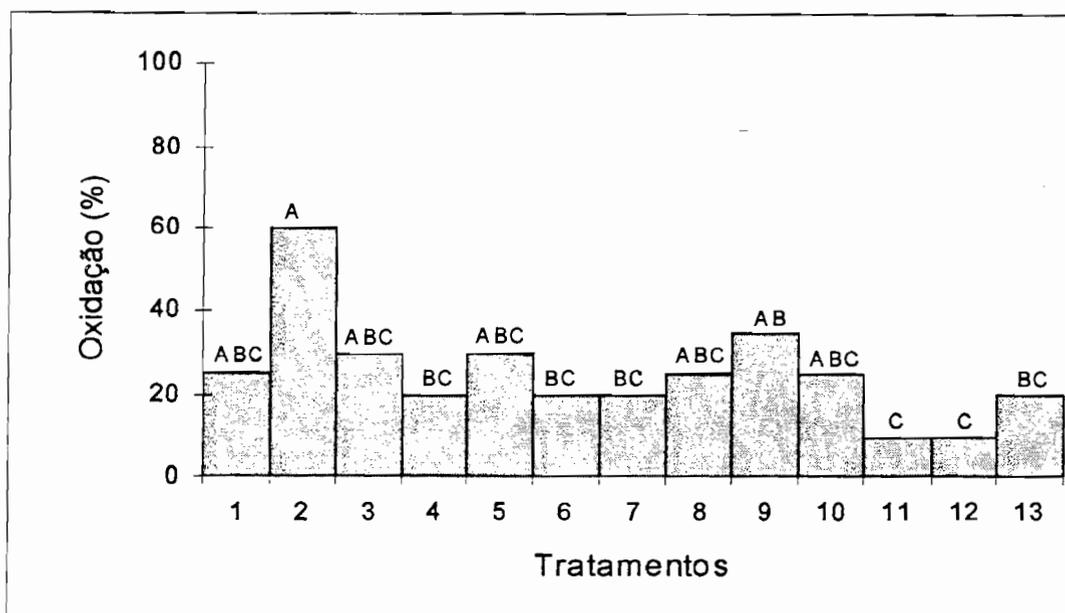


FIGURA 21. Efeito de diferentes tratamentos sobre a oxidação de segmentos nodais. (1) - Explantes oriundos do escuro. (2) - Explantes normais. (3) - Meio MS com a metade da concentrações de sais. (4) - Meio WPM sólido. (5) - Meio MS com PVP a 200  $\text{mgL}^{-1}$ . (6) - PVP a 400  $\text{mgL}^{-1}$ . (7) - PVP a 800  $\text{mgL}^{-1}$ . (8) - Meio MS com carvão ativado a 0,5%. (9) - Carvão ativado a 1,0%. (10) - Carvão ativado a 1,5%. (11) - Transposição em meio MS. (12) - Transposição em meio WPM líquido. (13) - Lavagem em água corrente por 24 horas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

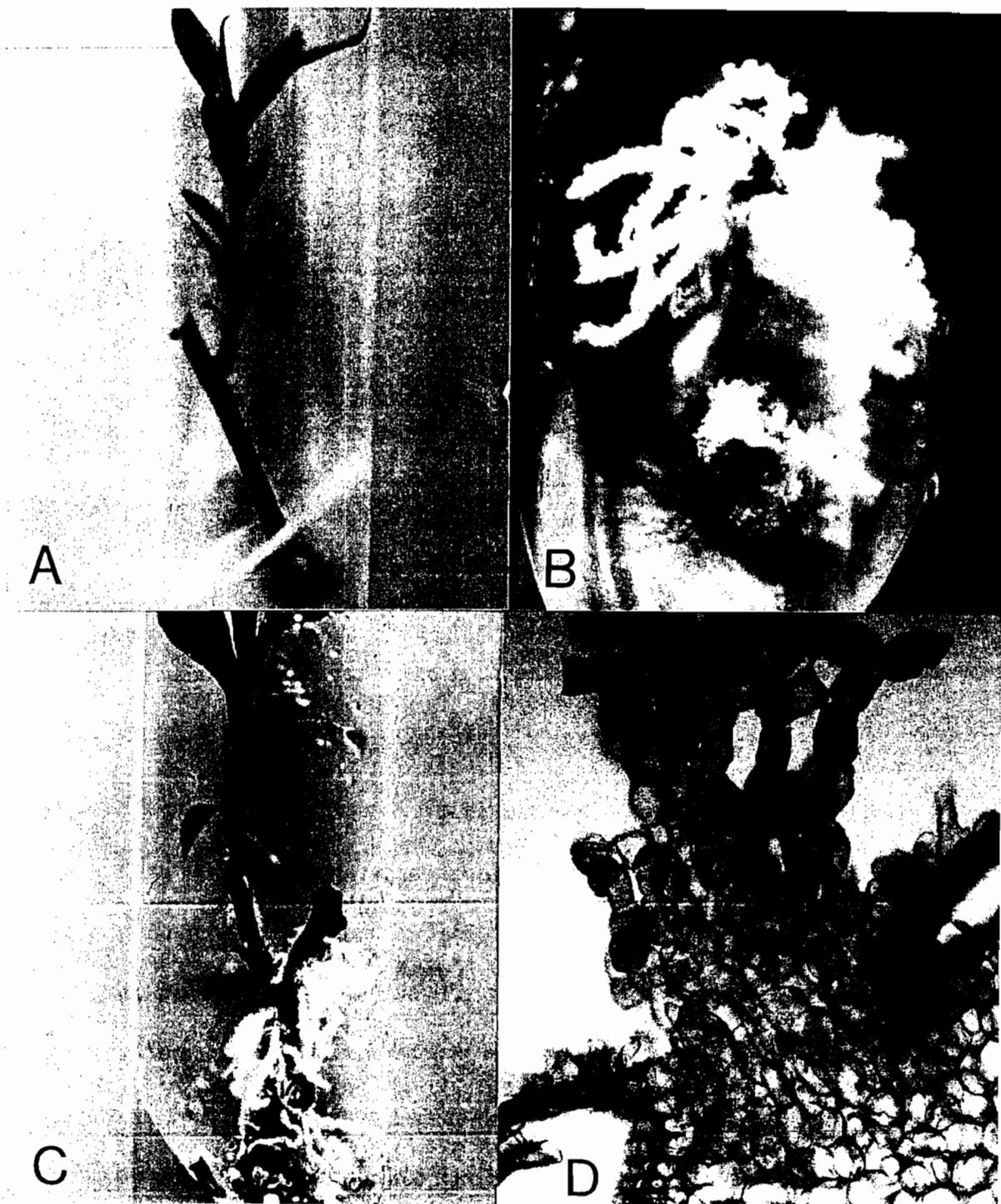


FIGURA 22. Segmentos nodais apresentando brotação (A), formação de calos (B) e brotação com formação de calos (C). Corte longitudinal efetuado em segmentos com calos (D).

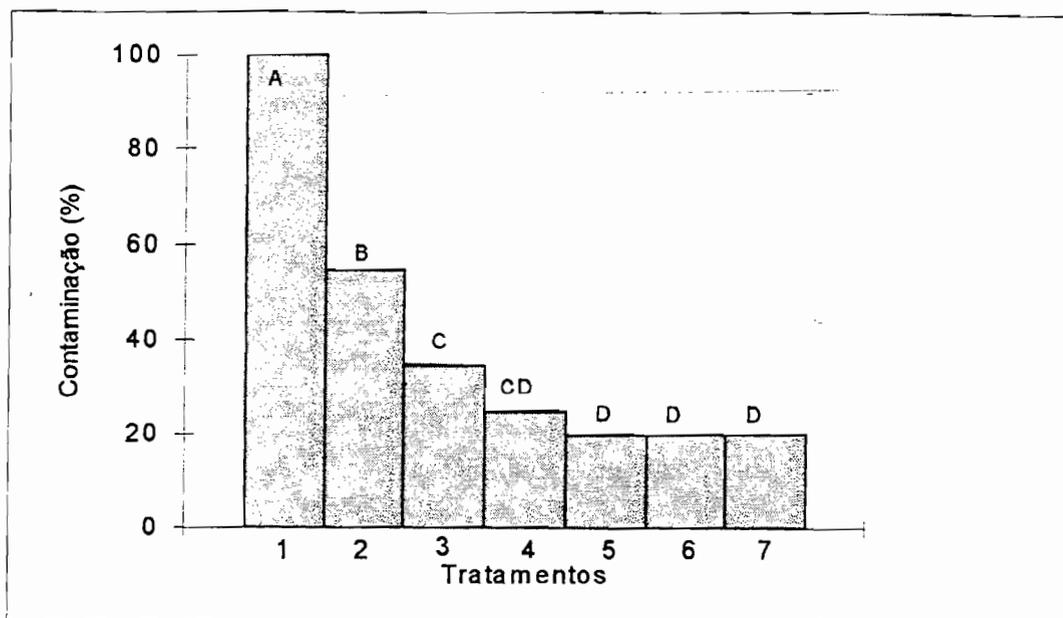


FIGURA 23. Efeito de diferentes tratamentos sobre a percentagem de explantes nodais contaminados. (1) - Água destilada autoclavada. (2) - Hipoclorito de sódio por 10'. (3) - Hipoclorito de sódio por 20'. (4) - Hipoclorito de sódio por 40'. (5) - Álcool + tratamento 2. (6) - Álcool + tratamento 3. (7) - Álcool + tratamento 4.

O segmentos de semente oriundos da parte central da amêndoa, compostos principalmente por tecidos de reserva, não se estabeleceram *in vitro*, apresentando-se ao final de 60 dias de cultivo oxidados ou contaminados. Os segmentos da parte apical da amêndoa apresentaram em média 57% de contaminação bacteriana, 15% de oxidação, 20% de formação de calos (Figura 24A) e 8% de brotação (Figura 24B e 24C), sendo que os explantes brotados apresentavam formação de calos, ao redor da superfície seccionada. O alto índice de contaminação e oxidação possivelmente se devem à idade das sementes, ao alto conteúdo de óleo e à riqueza nutricional da amêndoa, que se constitui num bom substrato para o crescimento de bactérias, que se encontravam no interior dos tecidos.

Embora não tenha havido efeito significativo das concentrações de ANA e BAP sobre a formação de calos e de brotações, possivelmente pelo pouco número de explantes isentos de

contaminação, destes, cerca de 29%, apresentavam uma brotação por explante. Foi observado no tratamento suplementado com 10.74  $\mu\text{M}$  de ANA e 4.44  $\mu\text{M}$  de BAP um explante que apresentava brotação de raiz (Figura 24D).

Cortes transversais, efetuados nos segmentos com formação de calos e observados em microscópios estereoscópicos, evidenciaram que a formação destes se deu a partir de tecidos parenquimáticos e do anel de tecido meristemático, descritos no capítulo 5.

Estes resultados sugerem que sementes recém colhidas, com menores índices de contaminação, cultivadas em diferentes meios de cultura, poderão proporcionar melhores taxas de brotação e a até a regeneração de plântulas. O sucesso na regeneração de plântulas a partir de segmentos de amêndoas poderá facilitar a coleta de germoplasma, pela facilidade de transporte e conservação da fonte de explante.

## 8.4 CONCLUSÕES

A formação de calos pode ser obtida a partir de segmentos foliares cultivados em meio MS, suplementado com 2,26  $\mu\text{M}$  de 2,4D e 8,88  $\mu\text{M}$  de BAP, podendo este calos ser repicado por até cinco vezes no mesmo meio de cultura.

Segmentos nodais apresentam intensa oxidação fenólica, contornada pela transposição nos meios de cultivo a cada 24 horas por tres vezes. Estes explantes apresentam formação de calos em meio MS ou WPM, suplementados com BAP e AIB nas concentrações de respectivamente 8,88 e 2,46  $\mu\text{M}$ .

Segmentos apicais de amêndoas apresentam potencial para cultivo *in vitro*, formando calos e brotações, independente do uso de reguladores de crescimento no meio de cultura.

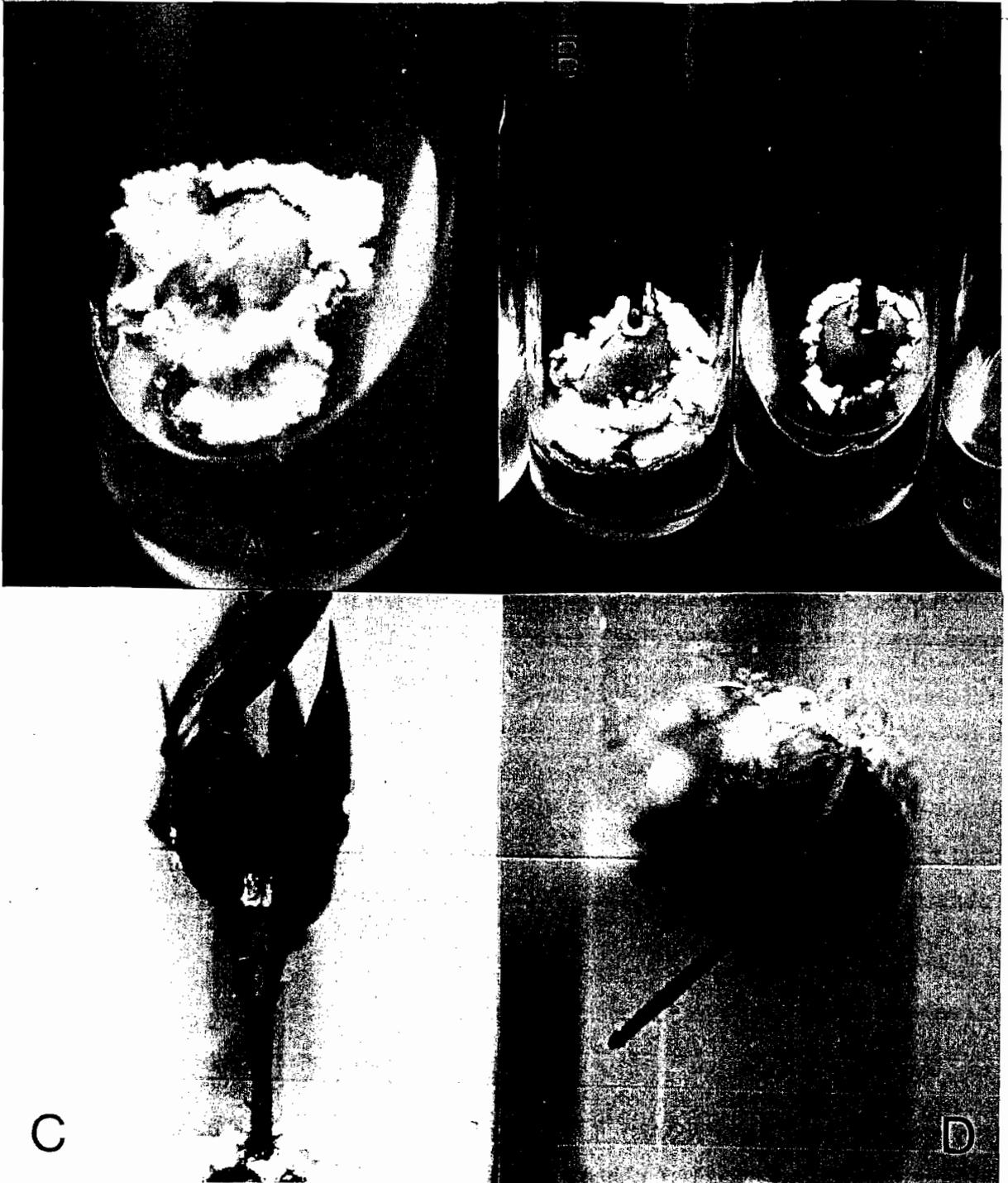


FIGURA 24. Segmentos de amêndoas apresentando formação de calos (A). Brotação de parte aérea (B) e (C). Brotação de raiz (D).

## 8.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIN, M.N. ; JAISWAL, V.S. *In vitro* response of apical bud explant from mature trees of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 33, p.59-65, 1993.
- BAJAJ, Y.P.S. Biotechnology of tree improvement for rapid propagation and biomass energy production. In: BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry . Trees 1**. Berlin: Springer-Verlag. 1986. p.1-23.
- BIASI, L.A. ; KOLLER, O.C. ; KAMPF, A.N. Micropropagação do abacateiro ouro verde a partir de segmentos nodais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n. 7, p.1051-1058, 1994.
- CAMARGO, I.P. ; MACEDO, R.L.G. Alta Floresta, MT. Situação atual e perspectivas de desenvolvimento sustentável. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 1., Porto Velho, 1994. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1994. v.2, p.65-70.
- CARVALHO, D. **Micropropagação de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden através de cultura in vitro de segmentos nodais**. Lavras: UFLA, 1988, 79p. (Dissertação de Mestrado em Fitotecnia)
- GILL, R.I.S. ; GILL, S.S. *In vitro* exudation of phenols in *Eucalyptus*. **Indian Forester**, New Delhi, v.20, n.6, p. 504-509, June 1994.
- GUPTA, P.K. ; NADGI, A.F. ; MASCARENHAS, A.A.F. ; JAGANNATHAN, V. Tissue culture of forest trees: clonal multiplication of *Tectona grandis* L. (Teak) by tissue culture. **Plant Science**, Limerick, v. 17, p. 259-268, 1980.
- JONES, O.P. The role of biotechnology in the multiplication and improvement of woody plants. **Acta Horticulturae**. Wageningen, v.289, p. 35-44, 1991

- KITAMURA, P.C. ; MULLER, C.H.M. **Castanhais nativos de Marabá-PA : Fatores de depredação e bases para sua conservação.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984. 32p. (EMBRAPA-CPATU .Documentos, 30).
- LAKSHMANA RAO, P.V. ; DEEPESH, N. de. Tissue culture propagation of tree legume *Albizia lebbek* (L.) Benth. **Plant Science**, Limerick, v.51, n. 2,3, p. 263-267, oct. 1987.
- LEE, S.K. ; RAO, A.N. *In vitro* regeneration of plantlets in *Fagraea fragrans* Roxb.- a tropical tree. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.7, n.1, p.43-51, jan. 1986.
- LISBOA, P. L. B. ; MACIEL, U. N. ; PRANCE, G. T. Some effects of colonization on the tropical flora of Amazonia: A case study from Rondonia. **Kew Bulletin**, London, v. 46, n. 2, p. 187-204, 1991.
- LLOYD, G. ; McCOWN, B. ; Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagation Society**, v.30, p.421-427, 1980.
- MARKS, T.R. ; SIMPSON, S.E. Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. **Journal of Horticultural Science**, v.65, n.2, p.103-111, 1990
- METIVIER, J.R. Citocininas. In: FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal 2.** 2. ed. São Paulo: EPU, 1986, p. 93-127.
- MORITZ, A. **Estudos biológicos da floração e frutificação da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.).** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984. 82p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos 19)
- MÜLLER, C.H. **Quebra de dormência e enxertia em Castanheira-do-brasil.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982. 40p. ( EMBRAPA-CPATU. Documentos 16).
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, New York, v.25, p. 135-166. 1974

- MURASHIGE, T. ; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p.473-497, 1962.
- PHAN, C.I. Vitreous state in vitro culture: ethylene versus cytokinin. **Plant Cell Report**, New York, v. 9, n. 9, p. 517-519, 1991.
- SITA, G.L. ; SWAMY, B.V.R. Regeneration of plantlets from leaf disk cultures of rosewood: control of leaf abscission and shoot tip necrosis, **Plant Science**, Limerick, v. 88, n.1, p. 107-112, jan. 1993.
- TAO,R. ; SUGIURA, A. Adventitious bud formation from callus cultures of japanese persimmon. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 3, p.259-261, mar. 1992
- TOLEDO, M.L.B. de ; LAMEIRA, O.A. ; COSTA, M. P. da ; SANTIAGO, E.J.A. de. Micropropagação in vitro do bacurizeiro(*Platonia insignis* Mart) e da castanheira *Bertholletia excelsa* H.B.K. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA, 44, São Luis 1993. **Anais...**São Luis: SBB, 1993. v.1, p.225.

## 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conjunto de informações apresentadas sobre a ecologia da castanheira-do-brasil, demonstraram a grande importância desta espécie para o ecossistema amazônico, a necessidade de sua preservação e seu potencial de utilização em plantios racionais.

Os estudos efetuados com análise de sementes, permitiram o aprimoramento de tecnologias utilizadas para determinar o grau de umidade e a qualidade fisiológica das sementes.

Os estudos anatômicos nas amêndoas e plântulas, permitiram identificar os tecidos vitais ao processo de germinação, podendo auxiliar em trabalhos futuros de propagação via sementes e *in vitro*.

O comportamento de mudas de castanheira-do-brasil em diferentes substratos, demonstrou a necessidade de novos estudos com diferentes substratos e níveis de fertilização.

O aprimoramento das técnicas utilizadas para propagação *in vitro*, poderá possibilitar a regeneração de plantas completas em vista do bom potencial de morfogênese observado nos tecidos utilizados.