

## NOTAS CIENTÍFICAS

### Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*)<sup>(1)</sup>

Maria Roseli Nicoli Spera<sup>(2)</sup>, Rozane da Cunha<sup>(3)</sup> e João Batista Teixeira<sup>(4)</sup>

Resumo – Os objetivos deste trabalho foram avaliar a viabilidade de embriões de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) pelo teste de tetrazólio e cultivo *in vitro*, o tratamento térmico na quebra de dormência das sementes, e o efeito do armazenamento em duas temperaturas na conservação das sementes. A viabilidade de embriões de sementes recém-colhidas foi condizente com os resultados de germinação de embriões *in vitro*, com valores superiores a 90%. O estudo da quebra de dormência foi feito com tratamento das sementes em temperaturas de 30, 35 e 40°C por períodos de 15, 30 e 45 dias. Até 15 e 30 dias, os resultados obtidos foram maiores que os do controle. Sementes armazenadas em saco de plástico por um período de quatro meses e meio, sob temperatura de 20°C, apresentaram resultados de germinação de embrião superiores a 90%, e sob temperatura de 30°C houve perda total da viabilidade.

Termos para indexação: cultivo *in vitro*, armazenamento de sementes, teste de tetrazólio, germinação de semente.

#### Dormancy breaking, viability and conservation of *Mauritia flexuosa* seeds

Abstract – The present work was conducted to evaluate the viability of embryos of *Mauritia flexuosa* L. by tetrazolium test and *in vitro* culture, high temperature treatment on dormancy breaking, and the effect of storage at different temperatures on seed conservation. The viability of newly harvested embryos presented a high correlation with the rate of embryo germination *in vitro*. The rate of viability was higher than 90% either when evaluated by the tetrazolium method or by *in vitro* embryo culture. Dormancy breaking of seeds was tested by treating the seeds under temperatures of 30, 35 and 40°C for 15, 30, and 45 days. Great variation was observed among treatments, but, at least on day 15 and on day 30, the germination was higher than in the control. Seeds stored in plastic bags for four and a half months and temperature of 20°C presented a germination rate higher than 90% while in the seeds stored at 30°C the viability was zero.

Index terms: *in vitro* culture, seed storage, tetrazolium test, seed germination.

---

<sup>(1)</sup> Aceito para publicação em 6 de dezembro de 2000.

<sup>(2)</sup> Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Caixa Postal 02372, CEP 70849-970 Brasília, DF. Bolsista do CNPq-Programa de Recursos Humanos em Áreas Estratégicas.

<sup>(3)</sup> Embrapa-Serviço de Informação Científica e Tecnológica, Caixa Postal 040315, CEP 70770-901 Brasília, DF. E-mail: rozane@sct.embrapa.br

<sup>(4)</sup> Embrapa-Cenargen. E-mail: batista@cenargen.embrapa.br

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.) é uma palmeira da família Arecaceae, que vegeta nas regiões alagadas e úmidas do Centro, Norte e Nordeste do Brasil (Lorenzi, 1992; Lorenzi et al., 1996; Almeida et al., 1998). Na Região dos Cerrados, ela aparece nas regiões baixas e úmidas, denominadas popularmente por veredas. Tem importância ornamental e estratégica na preservação da fauna, uma vez que seus frutos são fonte de alimentos para várias aves e mamíferos. Além disso, os frutos têm grande utilização na culinária regional, no preparo de doces e geléias e na extração do óleo, rico em vitamina A (Almeida & Silva, 1994).

A conservação de populações de espécies nativas depende de uma política adequada de proteção ambiental, resgate e conservação dos recursos genéticos, e também do desenvolvimento de métodos adequados para a propagação das diferentes espécies de interesse, visando sua conservação *in situ*, e reflorestamento de áreas degradadas (Ribeiro & Silva, 1996).

O estudo da fisiologia de sementes de buriti pode dar uma contribuição significativa para o estabelecimento da conservação no campo, que permita o resgate da variabilidade genética e conservação do germoplasma dessa espécie. Algumas palmeiras, como o coqueiro e o dendê, apresentam sementes recalcitrantes, sensíveis ao dessecação, o que impede a execução de programas de conservação a longo prazo, que se baseiam na desidratação da semente antes do armazenamento (Chin & Roberts, 1980).

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a viabilidade de embriões, o tratamento térmico na quebra de dormência das sementes, e o efeito do armazenamento em duas temperaturas, com vistas à conservação das sementes.

Os frutos foram colhidos em maio e novembro de 1995, na Fazenda São Miguel, Município de Cabeceiras, GO. Em cada coleta, foram utilizadas duas árvores. Os frutos da primeira coleta foram levados ao laboratório e armazenados em sacos de polipropileno trançado, até o momento do uso, que ocorreu no período de duas semanas. Ao final deste período, verificou-se desidratação parcial dos frutos que se encontravam na superfície, e início de deterioração dos que se encontravam no interior do recipiente. Em vista disto, os frutos da segunda coleta foram imediatamente desinfestados em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, durante 30 minutos, e em seguida, mantidos, durante uma semana, em cuba de plástico, imersos em água, e à temperatura ambiente, para evitar a desidratação. Durante este período, foram despolpados, para extração das sementes, as quais foram imediatamente desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 2%, durante 30 minutos, tratadas com suspensão de benomil a 0,5%, por 30 minutos, e expostas ao ar, por duas horas, em condições de laboratório para secagem superficial. A seguir, foram acondicionadas em sacos de plástico duplo, os quais foram selados e armazenados em câmara fria, no escuro, por, no máximo, duas semanas a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , até o momento do uso.

Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, por 30 minutos, e lavadas em álcool a 70%. Após a secagem ao ar, foi feita a extração do embrião, da seguinte maneira: as sementes foram presas numa pequena morsa instalada dentro da câmara de fluxo laminar de ar estéril, e por meio de dois cortes foi retirado o opérculo contendo o embrião aderido. Sobre papel-filtro estéril, os embriões foram cuidadosa-

mente separados do opérculo e colocados em água destilada estéril, onde permaneceram até o momento da desinfestação em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 15 minutos, seguida de três lavagens em água destilada estéril. Após este tratamento, os embriões foram submetidos ao teste de viabilidade e de germinação. A viabilidade dos embriões foi avaliada em solução de 1% de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), incubados no escuro à temperatura de  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante cinco horas, e analisados visualmente quanto ao padrão de coloração (Brasil, 1992). Para isso, o embrião foi dividido em duas partes: a cotiledonar, denominada base (parte interna do embrião que fica em contato maior com o endosperma) e a opercular, denominada ápice (parte próxima ao opérculo).

No teste de germinação, os embriões foram transferidos para cultivo em tubos de ensaio de 20 x 150 mm, utilizando meio de cultura WPM (wood plant medium) (Lloyd & McCown, 1980), acrescido de 2% de sacarose, 0,3% de carvão ativado, e 0,7% de ágar. O pH do meio foi ajustado em 5,8 antes da adição de carvão e ágar, e a autoclavagem foi feita por 20 minutos à temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$ . O cultivo foi conduzido sob temperatura de  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ , sob intensidade luminosa de  $25,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 14 horas. A avaliação do crescimento e desenvolvimento dos embriões foi feita semanalmente, até completar dois meses de cultivo.

Após o teste de avaliação da viabilidade pelo cloreto de trifeniltetrazólio e isolamento de embriões para cultivo *in vitro*, os frutos da primeira coleta (maio de 1995) foram descartados, por apresentar adiantado grau de deterioração ou desidratação. Portanto, os testes de quebra de dormência e de armazenamento foram conduzidos apenas com frutos provenientes da coleta realizada em novembro do mesmo ano (segunda coleta).

As sementes a serem submetidas ao tratamento térmico foram acondicionadas em sacos de plástico contendo 250 mL de vermiculita seca autoclavada, e armazenadas sob temperaturas de 30, 35 e  $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ , por períodos de 15, 30 e 45 dias, no escuro, em câmaras de crescimento do tipo BOD. Após esses períodos, 25 sementes de cada tratamento foram semeadas em casa de vegetação, em caixas de plástico contendo substrato do tipo Plantmax, e regadas diariamente; a avaliação da taxa de germinação foi feita ao final de 60 dias.

Para avaliar a capacidade de armazenamento, as sementes de buriti foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, durante 30 minutos, tratadas com benomyl a 0,5% por 30 minutos, e colocadas em sacos de plástico contendo vermiculita seca autoclavada. Selados os sacos, parte deles foi armazenada, no escuro, em câmara de crescimento, a  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ , e parte, em sala de cultura, a  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ . As condições de iluminação da sala de cultura foram fotoperíodo de 14 horas e intensidade de  $25,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Após quatro meses e meio, foi feita a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, pelo teste de tetrazólio nos embriões, e pelo cultivo de embriões *in vitro*.

Os frutos colhidos em maio e novembro apresentavam, aparentemente, o mesmo grau de desenvolvimento. Segundo Lorenzi (1992), a maturação dos frutos de buriti ocorre nos meses de dezembro a junho. Entretanto, na coleta de maio não se observou, no campo, queda espontânea de frutos, como ocorreu na coleta em novembro, o que sugere que os frutos da segunda coleta

estavam mais maduros que os da primeira. Na segunda coleta, as duas matrizes amostradas apresentavam frutos de diferentes tamanhos, embora com o mesmo grau de maturação, considerando que em ambas as matrizes se observou a despenca natural dos frutos.

Os embriões provenientes da primeira coleta apresentavam pelo menos sete padrões de coloração, variando suas ocorrências de 46% a 0%, ao contrário do observado nos embriões da segunda coleta, que apresentavam, basicamente, dois padrões de coloração, independentemente da matriz (Tabela 1). Uma possível explicação para a causa da variação no padrão de coloração em embriões da primeira coleta pode estar relacionada aos diferentes graus de maturação das sementes. Mesmo assim, nos embriões da primeira coleta, o somatório dos três primeiros padrões de coloração, A, B e C, chegou a 93,4%, que pode ser considerado o valor aproximado da viabilidade dos embriões, e foi semelhante ao valor encontrado nos embriões de frutos da segunda coleta. A germinação de embriões em cultivo *in vitro* apresentou valores acima de 90%, o que confirmou os dados obtidos na coloração com TTC.

Os embriões foram cultivados com sucesso em meio básico de cultura WPM. O cultivo de embrião maduro é feito para inúmeras espécies de plantas em meios de cultura simplificados, sem a necessidade de adição de reguladores de crescimento (Grattapaglia & Machado, 1990). A adição de carvão ativado foi baseada no cultivo de embriões de outras espécies (Hu & Ferreira, 1990) e seu principal efeito no meio de cultura está associado a sua capacidade de adsorção de substâncias potencialmente tóxicas presentes no meio de cultura ou produtos de excreção do próprio embrião como os polifenóis oxidados. Nos primeiros dias de cultivo, observou-se um acentuado intumescimento do embrião, sobretudo na porção próxima do opérculo. Após duas a três semanas de cultivo, observaram-se os primeiros sinais de desenvolvimento

**Tabela 1.** Teste de viabilidade e de germinação de embriões de buriti, provenientes de sementes de duas coletas<sup>(1)</sup>.

Classe	Coloração Padrão <sup>(2)</sup>	Viabilidade (%)		
		Primeira coleta Sementes pequenas	Segunda coleta <sup>(3)</sup>	
			Sementes pequenas	Sementes grandes
A	Ápice vermelho-escuro e base vermelha ou rosa	36,7	94,0	100,0
B	Ápice vermelho-escuro; metade da base vermelha ou rosa e metade branca	46,7	0,0	0,0
C	Ápice vermelho-escuro e base branca	10,0	0,0	0,0
D	Metade da ápice vermelho-escuro e metade branco e base rosa	1,7	6,0	0,0
E	Metade da ápice vermelho-escuro e base branca	3,3	0,0	0,0
F	Metade da ápice vermelho-escuro, metade da base rosa e metade branca	1,7	0,0	0,0
G	Todo branco	0,0	0,0	0,0
Total de embriões viáveis (A+B+C)		93,4	94,0	100,0
Germinação (%)		92,0	94,0	100,0

<sup>(1)</sup>O teste de viabilidade foi realizado mediante o uso de cloreto de trifêniltetrazólio a 1%/5 horas a 30°C, com 25 embriões para cada tipo de semente; no teste de germinação, 60 embriões de sementes da primeira coleta e 30 embriões para cada tipo de semente da segunda coleta foram cultivados em meio básico WPM (wood plant medium) com 2% de sacarose, 0,3% de carvão ativado e 0,7% de ágar. <sup>(2)</sup>Ápice: parte em contato com o opérculo; base: porção cotiledonar. <sup>(3)</sup>Sementes pequenas: 8,04 g, média de 30 unidades; sementes grandes: 19,24 g, média de 30 unidades.

dos primórdios da plúmula, o que se caracterizou pelo aparecimento de uma pequena protuberância em forma de cone, na região opercular. Esta protuberância continuou a crescer nas semanas seguintes, até que, por volta da quarta semana, as plúmulas já se encontravam com mais de 5 cm de comprimento. Após seis semanas de cultivo, as plúmulas alcançaram o desenvolvimento completo, atingindo 15 a 20 cm de comprimento. O início do crescimento das raízes foi observado a partir da quarta semana de cultivo e o desenvolvimento completo, ao final de dois meses.

Ao final do ensaio para quebra de dormência, as sementes apresentaram grande variação nos resultados de germinação, entre os tratamentos (Tabela 2). Mas, pelo menos, aos 15 e 30 dias, os tratamentos térmicos apresentaram valores maiores que os do controle. Em outras espécies de palmeiras, como o dendê, as sementes também necessitam de choque térmico para estimular a germinação (Hussey, 1956; Rees, 1961; Addae-Kagyah et al., 1998). Portanto, a dormência de sementes de buriti pode ser quebrada quando as sementes são expostas por determinado período, à temperaturas de 30 a 40°C.

O teste de armazenamento a 20°C mostrou que a viabilidade se manteve no nível de 90%, quando avaliado pelo teste de TTC, e a 92% pelo teste de germinação *in vitro* de embriões. Por outro lado, as sementes armazenadas a 30°C apresentaram perda total da viabilidade. Duas causas podem ser levadas em consideração, para explicar a perda de viabilidade das sementes a 30°C: maior atividade metabólica do embrião, e maior perda de água da semente, com conseqüente desidratação do embrião (Popinigis, 1977), por causa da baixa umidade relativa da sala de cultura, que variou entre 40 e 50%.

Este trabalho permitiu concluir que: a) as sementes de buriti apresentam dormência que pode ser quebrada por tratamento com temperatura de 30 a 40°C, por um período de 15 dias; b) há alta taxa de viabilidade dos embriões germinados *in vitro*; c) a dormência das sementes não se deve à dormência dos embriões, uma vez que a taxa de germinação dos embriões *in vitro* é superior a 90%; d) sementes de buriti mantêm a viabilidade quando armazenadas no escuro por um período de quatro meses e meio, em sacos de plástico selados, à temperatura de 20°C.

**Tabela 2.** Porcentagem de germinação de sementes pequenas e grandes de buriti após o tratamento no escuro, em câmaras de crescimento sob três temperaturas, durante três períodos<sup>(1)</sup>.

Temperatura <sup>(2)</sup>	Tamanho da semente	Período de tratamento (dias)		
		15	30	45
30°C	Pequena	24	72	0
	Grande	20	48	56
35°C	Pequena	64	44	4
	Grande	32	36	16
40°C	Pequena	88	36	8
	Grande	48	68	40

<sup>(1)</sup>A germinação foi avaliada em casa de vegetação, 60 dias após a semeadura. <sup>(2)</sup>As sementes do controle foram retiradas do fruto e imediatamente semeadas em substrato do tipo Plantmax, em casa de vegetação, e avaliadas após um período de 60 dias, obtendo-se germinação de 0% e 4% das sementes pequenas e grandes, respectivamente.

### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAP/DF) e ao Programa de Recursos Humanos em Áreas Estratégicas do Ministério da Ciência e Tecnologia (RHAE/MCT), pelo suporte financeiro; aos proprietários da Fazenda São Miguel, Município de Cabeceiras, GO, pela licença para coleta dos frutos em sua propriedade.

### Referências

- ADDAE-KAGYAH, K. A.; OSAFO, D. M.; OLYMPIO, N. S.; ATUBRA, O. K. Effect of seed storage, heat pretreatment and its duration on germination and growth of nursery stock of the idolatrica palm, *Elaeis guineensis* var. *idolatrica* (Chevalier). **Tropical Agriculture**, St. Augustine, v. 65, n. 1, p. 77-83, 1998.
- ALMEIDA, S. P. de; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC. 1998. 464 p.
- ALMEIDA, S. P. de; SILVA, J. A. da. **Piqui e buriti**: importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1994. 38 p. (Documentos, 54).
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.
- CHIN, H. F.; ROBERTS, E. H. **Recalcitrant crop seeds**. Kuala Lumpur: Tropical, 1980. 152 p.
- GRATTAPAGLIA, P.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas/Embrapa-CNPq, 1990. p. 89-169.
- HU, C. Y.; FERREIRA, A. C. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas/Embrapa-CNPq, 1990. p. 71-85.
- HUSSEY, G. An analysis of the factors controlling the germination of the seed of *Elaeis guineensis* (Jacq.). **Annals of Botany**, London, v. 22, p. 259-284, 1956.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagators' Society Combined Proceedings**, Seattle, v. 30, p. 421-427, 1980.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. v. 1.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C. de; BEHR, N. von. **Palmeiras no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 352 p.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura/Agiplan, 1977. 289 p.
- REES, A. R. Effect of high-temperature pre-treatment on the germination of palm oil seed. **Nature**, London, v. 189, n. 1, p. 74-75, 1961.
- RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. C. S. Manutenção e recuperação da biodiversidade do bioma cerrado: o uso de plantas nativas. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8.; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS 1., 1996, Brasília. **Anais...** Planaltina: Embrapa-CPAC, 1996. p. 10-14.