

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Interferência do oxigênio na conservação das sementes de arroz

Denis Santiago da Costa

Tese apresentada para obtenção do título Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2015**

Denis Santiago da Costa
Engenheiro agrônomo

Interferência do oxigênio na conservação das sementes de arroz

Orientador:
Profa. Dra. **ANA DIONISIA DA LUZ COELHO NOVEMBRE**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências.
Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2015**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Costa, Denis Santiago da
Interferência do oxigênio na conservação das sementes de arroz / Denis Santiago da
Costa. - - Piracicaba, 2015.
78 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Oryza sativa* L. 2. Análise multivariada 3. Hipoxia 4. Vácuo I. Título

CDD 633.18
C837i

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais pelo amor e carinho,
mas principalmente pela compreensão
de aceitar que um filho deve ser criado
para o mundo e que por mais que a
distância exista o amor nunca deixe de
ser o mesmo.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e proteção com que têm me abençoado.

À professora e orientadora Dr. Ana Dionisia da Luz Coelho Novembre, pelos ensinamentos, estímulo, humildade, profissionalismo e compreensão, pela orientação desta pesquisa, amizade e confiança a mim concedida, fundamentais à minha formação como profissional e, principalmente, como ser humano.

Aos pesquisadores Steven P.C. Groot e Jan Kodde por estabelecerem confiança desde o primeiro contato, por terem muita paciência durante as fases iniciais da minha estadia no exterior e acreditarem no meu trabalho de forma ímpar.

À Universidade de São Paulo - USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ pela oportunidade de realização desta pesquisa e aos seus professores pela contribuição à minha formação profissional e acadêmica.

À Wageningen University and Research/ Plant Research International – WUR/PRI por facilitar todo o procedimento da viagem para o exterior, por ter me acolhido e mostrado que existe uma forma de trabalho diferente do que estamos acostumados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado, ao Programa Ciências sem Fronteiras pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche e à Wageningen Seed Centre pelo suporte financeiro no período que as outras entidades não podem financiar minha estadia no exterior.

Ao meu irmão Rodrigo Santiago da Costa, à minha cunhada Karen Bianca Bertolucci, ao meu sobrinho João Vitor Santiago da Costa e à minha irmã Kamila Milhomem Santiago Dias que compreenderam os momentos ausentes, mas nunca deixaram de me apoiar.

Aos meus familiares os quais tenho muito carinho e afeto e que contribuíram para a formação do meu caráter.

Aos meus grandes amigos de Ilha Solteira, Rafael Marani e Fernanda Monteiro que permanecem até hoje como grandes presentes que carregarei pelo resto da minha vida.

Aos meus amigos de Piracicaba: Manoel (Dalá), Cartiane, Natália, Renata, Cristiane, Victor, Bruna, Sueyde, Danielle, Nayara, Haynna, Sibelle, Cibele, Juliana, Simone, Roberta, Francisco G., Francisco O., Márcio, Clíssia, Adriana, Henrique, Adilson, João, Tatiane, Fabrícia, Yuri, Naiara, Ronaldo, Adilson e Carol por todo o respeito e socialização que uma pós-graduação poderia oferecer. Aos demais colegas de várias disciplinas cursadas e momentos compartilhados no laboratório.

Aos meus amigos de casa de Wageningen: José Hernandez e Diego Rocha que me receberam como um irmão e me auxiliaram em cada momento de dificuldade por estar lidando com uma nova língua e nova cultura. Com certeza vocês foram os melhores “Room mates” que eu poderia ter tido.

Aos amigos de Wageningen: Ana Paula Corguinha, Greice, Cristiane Brito, Arno, Desalegn, Lilian, Cristiane, Renake, Daniel, Wilson, Marli, Jacqueline, Vanja, Anabelle e família, Alexandre, André, Júlio, Giovanni, Naira, Diego, Lívia, Luana, Milene e Joana pelos momentos sociais e pela música compartilhada.

Aos colegas de trabalho de Wageningen: Sam, Hilda, Cezary, Anneke, Alice, Suraj, e Leoni pela convivência e aprendizagem de diversas culturas no mundo.

À todos os docentes, funcionários e todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

DENIS SANTIAGO DA COSTA – nascido em 13 de maio de 1986, filho de Milton Tadeu da Costa e Zillene Milhomem Santiago da Costa, é Engenheiro Agrônomo formado na XXVIII Turma de Engenheiros Agrônomos da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira (FE) em julho de 2009. Durante a graduação em agronomia foi bolsista de iniciação científica pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, no período de 05/2007 a 03/2008 e de 05/2008 a 03/2009, trabalhando com sementes de feijão. Ganhou os prêmios de melhor aluno do segundo, terceiro e quarto ano do curso de agronomia e, ao final da graduação, foi homenageado pela primeira colocação em notas na XXVIII Turma de Engenheiros Agrônomos pelas entidades UNESP/FE, CREA-SP e Instituto de Engenharia. Em fevereiro de 2010 ingressou em primeiro lugar no curso de pós-graduação, mestrado em ciências (área de concentração: fitotecnia), pela Universidade de São Paulo (USP), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), sendo bolsista CNPq pelo período de 03/2010 a 02/2012, trabalhando com sementes de soja. Em fevereiro de 2012 ingressou em primeiro lugar no doutorado pela Universidade de São Paulo (USP), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), sendo bolsista CNPq pelo período de 03/2012 a 02/2015, trabalhando com sementes de arroz. Foi aprovado no processo seletivo para bolsista de doutorado sanduiche do programa Ciência Sem Fronteiras onde, durante o período de maio de 2013 a agosto de 2014, desenvolveu atividades na Universidade de Wageningen (WUR) com sementes de diversas espécies.

EPIGRAFE

“- A gente só conhece bem as coisas que cativou - disse a raposa. Os homens não têm mais tempo de conhecer coisa alguma. Compram tudo já pronto nas lojas. Mas como não existem lojas de amigos, os homens não têm mais amigos. Se tu queres um amigo, cativa-me! ”

O pequeno príncipe

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
Referências	19
2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SEMENTES DE ARROZ POR MEIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA	23
Resumo	23
Abstract.....	23
2.1 Introdução	24
2.2 Material e Métodos	25
2.3 Resultados.....	28
2.5 Discussão	32
2.5 Conclusão	34
Referências	34
3 UTILIZAÇÃO DO OXIGÊNIO COMO INDUTOR DE DETERIORAÇÃO EM SEMENTES ARROZ	37
Resumo	37
Abstract.....	37
3.1 Introdução	38
3.2 Material e Métodos	39
3.3 Resultados.....	43
3.4 Discussão	52
3.5 Conclusão	55
Referências	55
4 ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ EM CONDIÇÕES DE HIPOXIA ...	57
Resumo	57
Abstract.....	57
4.1 Introdução	57
4.2 Material e Métodos	59
4.3 Resultados.....	61
4.4 Discussão	66
4.5 Conclusão	67
Referências	67

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
APÊNDICES.....	73

RESUMO

Interferência do oxigênio na conservação das sementes de arroz

A qualidade de sementes é fundamental para as decisões para a produção agrícola e as formas para determinar a qualidade de sementes requerem inúmeros estudos visando à semeadura. Adicionalmente é essencial que haja condições ideais de armazenamento até que as sementes sejam utilizadas estabelecidas em função da espécie e da temperatura e a umidade relativa do ar, e que são fundamentais para a manutenção do parâmetro fisiológico das sementes. Alguns pesquisadores têm afirmado que outros fatores podem contribuir significativamente para a deterioração das sementes durante o armazenamento, tal como o oxigênio. Dessa forma, nessa pesquisa foi avaliada a ação do oxigênio na deterioração das sementes de arroz durante o armazenamento. Num primeiro momento, a qualidade das sementes de arroz foi avaliada com a aplicação de técnicas multivariadas em contraste com a análise univariada, para classificar as sementes quanto ao parâmetro fisiológico. Em seguida, as sementes foram testadas quanto à qualidade ao serem submetidas ao aumento da pressão da atmosfera com o intuito de aumentar a interferência do oxigênio na qualidade das sementes. Complementarmente, foi avaliada a utilização de embalagem com aplicação de vácuo, para verificar a interferência na conservação dessas sementes. Há possibilidade de utilização da análise estatística multivariada para classificar as sementes de arroz quanto à qualidade. O oxigênio reduz a qualidade das sementes de arroz durante o armazenamento em condições em que há a redução da temperatura e da umidade relativa do ar. A embalagem com uso de vácuo é uma alternativa viável para reduzir a deterioração das sementes de arroz.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Análise multivariada; Hipoxia; Vácuo

ABSTRACT

Oxygen interference and deterioration in rice seed conservation

Seed quality is fundamental for decision for agricultural production. Ways to determine seed quality are targets of numerous studies to identify the quality of the lots for sowing. Once identified the quality of seeds, secured storage ideal conditions should be proceeded until the seeds are ready for use. Ideal conditions for seed storage are depending on the species, as temperature and air relative humidity, important for the maintenance of the physiological quality of seeds. Some researchers have raised the hypothesis that more factors can significantly contribute to the deterioration of seeds, such as oxygen. Through the chapters of this thesis sought to evaluate the oxygen action in the deterioration of rice seeds during storage. At first it evaluated the quality of the seeds with the use of multivariate techniques in contrast to the univariate analysis to classify seeds as the physiological. Then seeds were tested for quality being subjected to high-pressure atmosphere in order to enhance the effects of oxygen on the seed deterioration. Finally, an additional chapter discusses the use of application of vacuum packaging to verify the effect on conservation. It is concluded that the multivariate statistical analysis is a potential tool to classify rice seeds as quality. Oxygen reduces the quality of rice seeds during storage under conditions of lower temperature and relative humidity and vacuum packing is a good alternative to decrease seed deterioration.

Keywords: *Oryza sativa* L.; Multivariate analysis; Hypoxia; Vacuum

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do arroz para a alimentação requer a utilização de sementes de arroz que tenham qualidade diferenciada, em função da influência direta da semente no desenvolvimento inicial das plântulas, para que haja rendimentos economicamente viáveis, uma vez que, sementes de qualidade inferior têm germinação lenta e desuniforme, diminuindo o total produzido e reduzindo a eficiência do uso de insumos (MATTIONI et al., 2012; MONDO et al., 2012).

Diversos parâmetros podem influenciar a qualidade das sementes, tais como adversidades durante o desenvolvimento das sementes, relacionadas à inadequação nutricional, à limitação da água e às pragas, durante a colheita, relacionado à época (DINIZ et al., 2013) e na pós-colheita, relacionado ao beneficiamento (PEREIRA; ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2012), ao tratamento (BINSFELD et al., 2014) e ao armazenamento (ANDRADE; BORBA, 1993).

Assim, a qualidade da semente é estabelecida durante a formação da semente e condições favoráveis de armazenamento, para uma determinada espécie, é que possibilitam a ampliação da manutenção da qualidade. No que tange o armazenamento de sementes duas variáveis são importantes do ponto de vista da conservação: umidade relativa do ar e temperatura. Harrington (1972) afirmou que a redução da temperatura diminui as atividades enzimáticas envolvidas nos processos de respiração e deterioração das sementes ortodoxas. Hartmann e Kester (1974) consideraram que para o armazenamento adequado das sementes o ideal é a combinação de 10% a 50% de umidade relativa do ar e 0°C a 10°C de temperatura.

No entanto, há outro foco para as condições do ambiente de armazenamento baseado em teorias utilizadas para a Ciência dos Alimentos que merece atenção para estudos em Tecnologia de Sementes. Labuza (1971) propôs que a atividade da água (indicador alternativo do teor de água das sementes) está diretamente relacionada com a atividade biológica do material biológico e, dessa forma, considerou que atividade da água inferior a 0,30 reduz significativamente a atividade enzimática desses materiais. Entretanto, para o mesmo valor de atividade da água as taxas de oxidação lipídica mantêm-se maiores que as demais e constituem a principal causa da deterioração (Figura 1.1). Essa hipótese pode ser aplicada para sementes pois é reforçada em função dos estudos envolvendo os radicais livres e a deterioração de sementes (BAILLY, 2004).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) são passíveis de ocorrer na atmosfera ou podem ser produzidas durante a atividade metabólica de organismos vivos, cujo produto final será a água (H₂O). O oxigênio consumido durante a respiração pode formar moléculas intermediárias

de oxigênio, altamente reativas. Essas moléculas são responsáveis pela oxidação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, que participam ativamente do processo de deterioração (BAILLY, 2004).

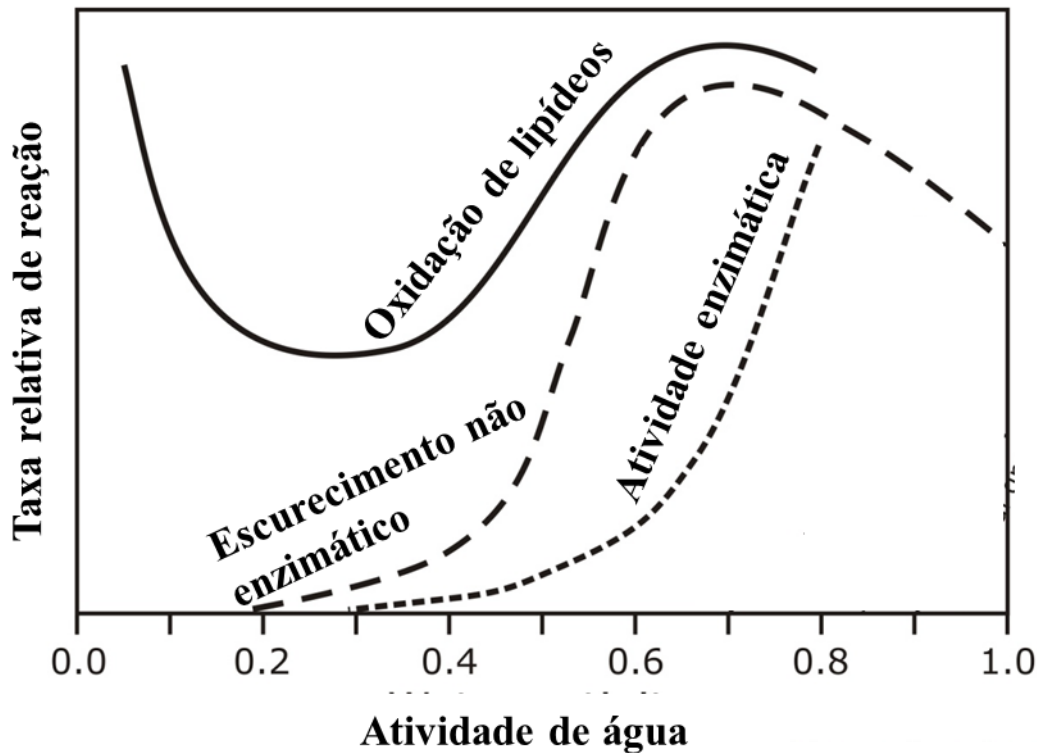


Figura 1.1 - Taxa relativa de reações que ocorrem em materiais biológicos, em função da atividade da água (adaptado de Labuza, 1971)

O oxigênio é o segundo elemento mais abundante do ar atmosférico, representa cerca de 21%. Para a manutenção da viabilidade das sementes ortodoxas, as quais têm nível reduzido de metabolismo, são necessárias poucas moléculas de oxigênio, dessa forma, o restante do oxigênio atmosférico tem potencial para causar danos oxidativos. Nesse ponto existem duas linhas para as pesquisas: uma delas estuda o potencial dano da presença do oxigênio na deterioração das sementes e a outra a influência da manutenção da vida das sementes na ausência do oxigênio.

Assim, considerando a primeira linha de pesquisa, os efeitos do oxigênio no armazenamento de sementes foram descritos por Abdalla e Roberts (1968) que mostraram que o aumento do nível de oxigênio durante o armazenamento causa aberrações durante a divisão celular, provavelmente induzidas por danos oxidativos no DNA, durante o período de armazenamento. Recentemente, Groot et al. (2012) retomaram essa linha e desenvolveram um método para estudo do armazenamento de sementes, associando a redução do teor de água da

semente com o aumento da pressão de oxigênio. Observaram que o aumento da pressão de oxigênio reduz a qualidade das sementes de algumas espécies, bem como o teor de tocoferol, composto que tem função antioxidante nas células vegetais. Assim, de acordo com os resultados desses autores é possível estabelecer uma relação entre a concentração de oxigênio e a qualidade das sementes.

Além disso, a informação desses autores possibilita associar a primeira linha de pesquisa à segunda, aquela que estuda a influência do armazenamento das sementes em ausência de oxigênio, ou seja, a utilização do vácuo. Esse sistema tem apresentado vantagens como a redução do oxigênio no interior da embalagem e o favorecimento da conservação das sementes, como observado para as sementes de amendoim, milho e soja (NEW, 1988; ROUZIÈRE, 1986).

Recentemente, Camargo e Carvalho (2008) estudaram a interferência da embalagem com vácuo para as sementes de milho-doce e concluíram que há viabilidade do armazenamento dessas sementes nesse tipo de embalagem e em condições naturais de ambiente, pelo período de 18 meses. Andrade et al. (2010) também verificaram que a embalagem com vácuo, para as sementes de mamona armazenadas em armazém convencional, foi a que melhor preservou a qualidade dessas sementes.

Para propor o entendimento da ação do oxigênio, num primeiro momento foi avaliada a qualidade das sementes com a aplicação de técnicas multivariadas em contraste com a análise univariada, para classificar as sementes quanto ao parâmetro fisiológico. Em seguida, as sementes foram testadas quanto à qualidade ao serem submetidas ao aumento da pressão da atmosfera com o intuito de aumentar a interferência do oxigênio na qualidade das sementes. Complementarmente, foi avaliada a utilização de embalagem com aplicação de vácuo, para verificar a interferência na conservação das sementes.

Diante do exposto o objetivo geral dessa pesquisa foi avaliar a ação do oxigênio na conservação das sementes de arroz durante o armazenamento.

Referências

ABDALLA, F.H.; ROBERTS, E.H. Effects of temperature, moisture, and oxygen on the induction of chromosome damage in seeds of barley, broad beans, and peas during storage. *Annals of Botany*, London, v.32, n.1, p. 119–136, Jan. 1968.

ANDRADE, R.V.; BORBA, C.S. Fatores que afetam a qualidade das sementes. In: EMBRAPA, Centro Nacional de Milho e Sorgo. **Tecnologia para produção de sementes de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 1993. p. 7-10.

ANDRADE, T.; SANTOS, H.O.; CARVALHO, M.L.M.; VON PINHO, E.V.R.; OLIVEIRA, J.A. Armazenamento de sementes de mamona em diferentes embalagens e temperaturas. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19., 2010. **Anais...** Lavras:UFLA, 2010. P.1-3

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v.14, n. 2, p. 93–107, May 2004.

BINSFELD, J.A.; BARBIERI, A.P.P.; HUTH, C.; CABRERA, I.C.; HENNING, L.M.M. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p.88-94, Jan. 2014.

CAMARGO, R.; CARVALHO, M.L.M. Armazenamento a vácuo de semente de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n.1, p. 131-139, Jan. 2008.

DINIZ, F.O.; REIS, M.S.; DIAS, L.A. dos S.; ARAÚJO, E.F.; SEDIYAMA, T.; SEDIYAMA, C.A. Physiological quality of soybean seeds of cultivars submitted to harvesting delay and its association with seedling emergence in the field. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.35, n.2, p.147-152, Fev. 2013.

MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; DOURADO-NETO, D.; PUPIM, T.L.; DIAS, M.A.N. Effect of Seed Vigor on Intraspecific Competition and Grain Yield in Maize **Agronomy Journal**, Madison, v. 105, n.1, p. 222-228, 2012.

GROOT, S.P.C.; SURKI, A.A.; De VOS, R.C.H.; KODDE, J. Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions. **Annals of Botany**, London, v.10, n. 6, p. 1149-1159, Sept. 2012.

HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 3, p. 145-245.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Propagacion de plantas**. México: Continental, 1974. 810p.

LABUZA T.P. Kinetics of lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Technology**, Amherst, v. 2, n. 3, p. 355–405, Oct. 1971.

MATTIONI, F.; ALBUQUERQUE, M. C. de F.; MARCOS-FILHO, J.; GUIMARÃES, S. C. Vigor de sementes e desempenho agrônômico de plantas de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n.1, p.108-116, Jan. 2012.

NEW, J.H. Studies on vacuum packing of seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.16, n. 2, p. 715-723, Jul. 1988.

PEREIRA, C.E.; ALBUQUERQUE, K. S.; OLIVEIRA, J.A. Qualidade física e fisiológica de sementes de arroz ao longo da linha de beneficiamento. **Semina**: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 6, p.2995-3001, Jan. 2012.

ROUZIÈRE, A. Storage of shelled groundnut seed in controlled atmospheres. I. Preliminary trials 1979-1982. **Oleagineux**, Paris, 41, n. 7, p. 329-344, Sept. 1986.

2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SEMENTES DE ARROZ POR MEIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Resumo

O uso de sementes com a qualidade comprovada é essencial para a produção das grandes culturas, pois essas sementes possibilitam o estabelecimento da população das plantas de forma adequada e uniforme. Os testes de vigor são indicados para determinar a qualidade das sementes e um dos fatores que dificulta a utilização desses testes está relacionado com a interpretação dos resultados, uma vez que variações podem ser obtidas em função do teste utilizado para estimar o vigor. A estatística multivariada pode constituir alternativa para analisar os resultados dos diferentes testes de vigor e facilitar a interpretação dos dados de forma objetiva. Nessa pesquisa foi avaliado o potencial de uso e a aplicação da análise estatística multivariada, para a interpretação dos resultados de testes utilizados para estimar o vigor das sementes de arroz. Assim, sementes de arroz, do cultivar BRS-Sertaneja, representadas por quatro lotes, foram avaliadas em ensaios laboratoriais (grau de umidade e testes de germinação, de frio, de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica) e não laboratoriais (velocidade de germinação das sementes e de emergência da plântula em campo e em casa de vegetação). Os dados foram comparados por análise estatística univariada e multivariada. A análise estatística multivariada, por meio da combinação da análise dos componentes principais e do agrupamento, foi eficaz para proporcionar a interpretação clara dos dados, relacionando o vigor das sementes com os lotes e todos os testes. Dessa forma, a análise estatística multivariada, por meio da análise de agrupamento combinada e da análise de componentes principais, é eficiente e pode ser utilizada de forma complementar para a classificação da qualidade das sementes de arroz, avaliadas por meio dos testes de vigor.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Análise multivariada; Vigor

Abstract

The use of seeds with reliable quality is essential to the production of field crops, once seed quality have enable the establishment of populations of plants suitable and uniform manner. One of the factors that make hard the use of existing tests is associated with the interpretation of results, since variations can be found depending on the selected test to estimate seed vigor. Multivariate statistics can be an alternative to using the results of several vigor tests and facilitate the interpretation of data, easily and objectively. The aim of this study was to evaluate the potential use and application of multivariate statistical analysis, for the interpretation of test results used to estimate seed vigor in rice. Thus, rice seeds, cultivar BRS-Sertaneja, represented by four lots were evaluated in laboratory tests (moisture content, germination, cold test, accelerated aging and electrical conductivity) and not laboratory (seedling emergence in the field, seedling emergence in greenhouse and speed of germination). Data were compared by univariate and multivariate statistical analysis. The multivariate statistical analysis, by combining principal components analysis and cluster analysis was effective to provide a clear interpretation of the data relating the force with lots and all tests. Thus, multivariate statistical analysis, through of cluster analysis and principal component analysis is efficient and can be used as a complementary way for quality classification of rice seeds evaluated by vigor tests.

Keywords: *Oryza sativa* L.; Multivariate analysis; Vigor

2.1 Introdução

O estabelecimento da planta é etapa fundamental da produção agrícola, para atingir produtividades competitivas e economicamente viáveis. Para as plantas de cada cultivar existe uma população ideal, decorrente de estudos realizados para determinar o número de plantas no campo, sem que a competição interespecífica reduza significativamente a produtividade. A inadequação da população de plantas interfere na produtividade e interfere na utilização dos insumos pelas plantas (GITTI et al., 2013).

A distribuição das plantas no campo é determinada em função da quantidade de sementes semeadas o que, por sua vez, é determinada pelos resultados do teste de germinação. Entretanto, diferenças significativas dos resultados desse teste podem ser observadas em campo quando as condições são adversas para o processo de germinação (TEKRONY; EGLI, 1977). Nessa situação, destacam-se as sementes que são classificadas como vigorosas, pois em algumas condições desfavoráveis germinam e mantêm a uniformidade de estabelecimento da plântula com valores similares aos do resultado do teste de germinação (EGLI; RUCKER, 2012).

Existem vários testes para avaliar o vigor das sementes como, por exemplo, o de envelhecimento acelerado para as sementes de soja, o de condutividade elétrica para as sementes de ervilha, os quais estão padronizados e descritos nas Regras para Análise de Sementes da ISTA (ISTA, 2012), e o teste de frio para as sementes de milho, que é, na prática, o único teste utilizado pelas empresas que produzem sementes de milho.

Entretanto, algumas vezes, os resultados desses testes geram dúvida quanto à validação dos mesmos para as sementes de determinados lotes. O que acontece é que, muitas vezes, os resultados da classificação dos lotes quanto ao vigor variam em função do tipo de teste, dificultando, para os produtores e os pesquisadores, a recomendação da utilização dos diferentes lotes em função do vigor das sementes.

Uma alternativa para solucionar esse problema é a criação de um índice ou a obtenção de uma única informação que possibilite caracterizar a qualidade das sementes. Recentemente, os métodos estatísticos multivariados foram utilizados por Barbosa et al. (2013) para análise dos resultados relacionados à emergência da plântula de soja em condição de estresse hídrico. Baseado nessa pesquisa, é possível que haja a combinação entre a análise de agrupamento com a análise de componentes principais para indicar de maneira gráfica e numérica a variação de resultados da qualidade das sementes de vários lotes, em função dos testes utilizados para estimar o vigor.

A análise de agrupamento usa distâncias e métodos de ligação que permitem unir grupos de maior similaridade. A partir de grupos formados por essa análise é possível criar uma interpretação completa do gráfico “biplot” originado por meio da análise de componentes principais. No gráfico “biplot” duas ou mais novas variáveis são criadas de modo que representem pelo menos 80% da variância total dos dados (JOLLIFE, 2002). No caso de sementes, em um gráfico “biplot” os lotes seriam representados por pontos (autovetores) e os parâmetros avaliados inicialmente pelo pesquisador por setas (autovetores) e a partir desse tipo de análise é possível identificar a variação de resultados da avaliação da qualidade das sementes de vários lotes, em função dos testes utilizados, além de possibilitar identificar quais sementes têm probabilidade superior de germinarem rapidamente e de forma uniforme.

Portanto, a análise multivariada tem potencial para ser utilizada para a análise dos resultados da avaliação da qualidade de sementes, mas a sua aplicabilidade não foi ainda estudada, no sentido de avaliar os resultados dos testes que estimam o vigor das sementes. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi verificar o potencial de uso da análise estatística multivariada para interpretação dos resultados dos testes utilizados para estimar o vigor das sementes de arroz.

2.2 Material e Métodos

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) do cultivar BRS-Sertaneja, de quatro lotes comerciais (L1, L2, L3 e L4), com germinação superior a 80%, conforme indicado no padrão de comercialização de sementes de arroz (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2013), foram compradas da Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás, Brasil) e usados nesse experimento.

As sementes para as análises foram mantidas em ambiente com 55% de umidade relativa do ar e 20°C de temperatura, para atingirem grau de umidade inicial de $11 \pm 1\%$ (base úmida), para o início das análises. Em seguida, as sementes foram avaliadas em laboratório e em campo, com quatro repetições. Em laboratório (ensaios laboratoriais) as sementes foram avaliadas em abril de 2013 enquanto que em nível de campo (ensaios não laboratoriais) as avaliações foram em maio de 2013 e em setembro de 2014.

Ensaios laboratoriais: foram consideradas as análises feitas no laboratório de Análise de Sementes, em condições controladas, por meio das seguintes determinações: grau de umidade, germinação e testes de vigor (de frio, de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica), conforme descritos a seguir.

Grau de umidade: realizado conforme indicado nas Regras para Análise de Sementes, (BRASIL, 2009); duas amostras de sementes de, aproximadamente, $4,5 \pm 0,5$ g cada foram pesadas e colocadas em recipientes abertos de alumínio. O conjunto recipiente + sementes foi mantido em estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. No final desse período os recipientes foram tampados e mantidos em dessecador contendo sílica gel seca. Após 30 minutos o conjunto recipiente + sementes foi pesado e calculado o grau de umidade (base úmida). O resultado foi expresso em porcentagem de água.

Germinação: realizada com quatro repetições de 50 sementes cada. Para cada repetição foram utilizadas três folhas de papel, do tipo Germitest[®], umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As sementes foram distribuídas inicialmente sobre duas folhas e, em seguida, cobertas pela terceira folha que, então, foram enroladas para formar os rolos, conforme proposto nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O conjunto de rolos foi mantido em germinador, do tipo Mangelsdorf, em temperatura constante de 25°C por 14 dias. O resultado foi calculado considerando a quantidade de plântulas normais e expresso em porcentagem. Uma avaliação adicional foi realizada no quinto dia e denominada primeira contagem de germinação.

Teste de frio: realizado com quatro repetições de 50 sementes distribuídas em papel, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos, vedados com fita adesiva e mantidos em câmara regulada a 10°C , durante sete dias. Após este período, os rolos foram transferidos para um germinador, do tipo Mangelsdorf, à temperatura de 25°C , onde permaneceram por mais sete dias (PATIN; GUTORMSON, 2005). O resultado foi calculado considerando a quantidade de plântulas normais e expresso em porcentagem.

Envelhecimento acelerado: realizado com 220 sementes, distribuídas em uma camada uniforme sobre telas de aço inoxidável, colocadas no interior de caixas plásticas (11 cm \times 11 cm \times 3 cm), em cujo fundo são colocados 40 mL de água. As caixas plásticas foram então tampadas e mantidas por 96 horas a 42°C (PATIN; GUTORMSON, 2005). Após esse período foi instalado o teste de germinação conforme descrito anteriormente. A avaliação foi efetuada aos cinco dias de acordo com as instruções propostas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O resultado foi calculado considerando a quantidade de plântulas normais e expresso em porcentagem.

Condutividade elétrica: conduzido de acordo com o método descrito por Vieira e Krzyzanowski (1999), utilizando quatro amostras de 50 sementes puras, previamente pesadas, imersas em 75 mL de água destilada e mantidas a 25°C , durante 24 horas em germinador, do

tipo Mangelsdorf. Decorrido esse período, a condutividade elétrica da solução foi determinada em condutivímetro e os resultados expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes.

Os ensaios não laboratoriais foram conduzidos em área externa ao laboratório, em condição não controlada de ambiente, por meio das seguintes avaliações em casa de vegetação (emergência da plântula e índice de velocidade de emergência da plântula) e em campo (emergência da plântula), conforme descritas a seguir.

Emergência da plântula em casa de vegetação: quatro repetições de 50 sementes da foram semeadas a 3 cm de profundidade em substrato de areia, umedecida com água, cuja quantidade foi calculada com base em 60% da capacidade de retenção de água pela areia. As avaliações foram diárias, até o décimo dia, e com os dados foram calculados o índice de velocidade de emergência da plântula, conforme proposto por Maguire (1962), e o total de plântula emersa, registrado no décimo quarto dia, o qual foi expresso em porcentagem.

Emergência da plântula em campo: quatro repetições de 100 sementes cada foram semeadas a três centímetros de profundidade em um Nitossolo Vermelho Eutrófico, Embrapa (2006). A irrigação foi efetuada após a semeadura e a cada dois dias, até o décimo quarto dia. O total de plântulas emersas, registrado no décimo quarto dia, foi expresso em porcentagem.

Após dezesseis meses de armazenamento em ambiente não controlado, as sementes foram avaliadas novamente em ensaios não laboratoriais, visando verificar se os resultados relativos aos testes de vigor, obtidos no momento inicial do armazenamento, são compatíveis à interferência desse período na qualidade das sementes armazenadas.

O delineamento experimental utilizado para a análise dos resultados dos ensaios laboratoriais foi o inteiramente casualizado. Para as análises estatísticas dos resultados dos ensaios não laboratoriais foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso. Para a análise de variância o conjunto de dados foi submetido a análise e quando apresentaram valores de F significativos com pelo menos, 5% de probabilidade as médias dos resultados foram comparadas pelo teste de Tukey.

Para a estatística multivariada foram utilizadas as análises de agrupamento e de componentes principais. Os dados foram considerados adequados para essa análise quando apresentaram coeficiente de variação menor que 10%. As médias dos resultados da avaliação das sementes de cada lote foram calculadas e transformadas para média zero e variância um. Essa transformação foi realizada para evitar superestimar ou subestimar o peso de uma variável estudada no resultado final devido às diferenças de escala de medida. Para os cálculos da análise multivariada foram considerados os resultados dos testes de germinação, de envelhecimento acelerado, de frio e de condutividade elétrica.

Para análise de agrupamento foi considerada a distância Euclidiana dos resultados das avaliações das sementes de cada lote ($d = \sqrt{\sum_{i=1}^n (p_i - q_i)^2}$, em que p_i e q_i são pontos de cada parâmetro analisado num espaço euclidiano n -dimensional) e como modo de conexão a ligação média (UPGMA). A partir dos resultados foi criado um dendrograma e a partir das ligações médias entre os resultados das avaliações das sementes dos quatro lotes foi determinado se a qualidade dessas sementes é similar ou não em função da seleção de um valor de distância que melhor explica o conjunto de dados.

A análise dos componentes principais foi calculada com os dados transformados em média zero e variância um para o resultado das sementes de cada lote e uma matriz $n \times p$ foi obtida, para as quais “ n ” é o número de lotes ($n=4$) e “ p ” o número de avaliações: germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio e condutividade elétrica ($p=4$). Nesse caso, a primeira contagem do teste de germinação não foi considerada por ser um resultado proveniente do teste de germinação, o que não contribuiria para o resultado final. A partir da matriz de covariância foram calculados os autovalores (valores representativos da variabilidade retida por cada nova componente) e autovetores (valores representativos da localização dos pontos no gráfico), o gráfico bidimensional gerado (“biplot”) e ajustados a partir do macro do Microsoft Excel® proposto por Lipkovich e Smith (2002). O número ideal de novas componentes que explica os resultados foi considerado quando a soma da representatividade dos autovalores superou 80% da variabilidade dos dados (JOLLIFE, 2002).

2.3 Resultados

Antes do início das avaliações as sementes tinham quantidades de água semelhantes, respectivamente 10,1%, 10,5%, 10,1% e 10,9% para os lotes L1, L2, L3 e L4. Após dois anos de armazenamento em ambiente não controlado praticamente não houve variação da quantidade de água das sementes dos quatro lotes, com valores de 11,0%, 10,7%, 10,7% e 11,1%. Após o teste de envelhecimento acelerado o teor de água sementes foi, em média, 25,2%, sem variação que altere a validade dos resultados desse teste.

Os resultados dos testes utilizados para o estudo do parâmetro fisiológico das sementes em laboratório não possibilitaram identificar variações de qualidade entre as sementes dos lotes avaliados (Tabela 2.1). Contudo, foi observada variação de qualidade entre as sementes dos lotes L3 e L1, uma vez que a quantidade de plantas emersas em campo, no ensaio não laboratorial, estatisticamente inferior para as sementes do lote L1. Esses resultados foram confirmados após dezesseis meses de armazenamento, em nível de campo e em condição de

ambiente não controlado, pois as sementes do lote L1 tiveram a menor quantidade de plantas emersas em relação aos resultados das sementes dos demais lotes.

Tabela 2.1 - Sementes de arroz, cultivar BRS Sertaneja, lotes L1, L2, L3 e L4. Resultados dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, frio, condutividade elétrica e índice de velocidade de emergência e emergência da plântula, em casa de vegetação e em campo, em dois momentos de avaliação

Avaliações realizadas	Lotes				Coeficiente de variação (%)
	L1	L2	L3	L4	
<i>Ensaio laboratoriais</i>					
Teste de germ. (%)	91	90	92	93	3,0
Prim. contagem (%)	89	88	90	88	2,3
Teste env. acelerado (%)	78	76	81	76	6,4
Teste de frio (%)	80	76	88	86	8,2
Teste cond. elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm.g}$)	32,8	32,2	30,7	31,1	5,6
<i>Ensaio não laboratoriais</i>					
Em. plântula campo (%)*	74 b	82 a	89 a	82 a	4,8
Em. plântula casa vegetação (%)	94	92	93	91	5,3
Velocidade de emergência ¹	11,1	11,1	11,0	11,0	6,1
<i>Ensaio não laboratoriais após 16 meses</i>					
Em. plântula campo (%)*	54 b	60 ab	67 a	62 ab	8,7
Em. plântula casa vegetação (%)	89	92	89	88	6,8
Velocidade de emergência ¹	8,8	9,2	8,9	8,8	6,6

*Resultados com F calculado significativo ($p < 0.05$) e as médias seguidas de letras distintas são diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ¹ Dados obtidos a partir da emergência em casa de vegetação

Os resultados dos cálculos da distância euclidiana geraram uma matriz que indicou que, apesar da estatística convencional não mostrar diferença de qualidade entre as sementes dos quatro lotes para os ensaios laboratoriais, existe distância espacial entre os lotes de sementes, ou seja, há similaridade ou não conforme a variação da distância (próximo ou distante) entre os lotes de sementes (Tabela 2.2). As maiores distâncias observadas foram entre os resultados das sementes do lote L2 em relação aos resultados das sementes do lote L3 ($d=3,74$). Por outro lado, os resultados das avaliações das sementes dos lotes L1 e L2 ($d=1,49$) e L3 e L4 ($d=2,32$) tiveram as menores distâncias.

Tabela 2.2 - Distâncias euclidianas entre resultados das avaliações das sementes de arroz, cultivar BRS Sertaneja, dos lotes L1, L2, L3 e L4, distribuídas na forma de matriz matemática

Distância	L1	L2	L3	L4
L01	0,00	-	-	-
L02	1,49	0,00	-	-
L03	3,00	3,74	0,00	-
L04	2,72	3,16	2,32	0,00

O método de ligação média, utilizado na análise de agrupamento, reuniu os resultados dos lotes que foram similares em relação à menor distância euclidiana (Figura 2.1). Pelo gráfico foi possível verificar que a distância 2,4 de ligação distinguiu os lotes que têm menos similaridade, possibilitando criar dois grupos distintos o primeiro contendo os lotes L3 e L4 (Grupo I) e o segundo contendo os lotes L1 e L2 (Grupo II). Nesse estudo o valor ideal para distinção dos grupos foi definido em função da separação dos grupos que melhor explicam os resultados de similaridade entre os lotes de sementes, conforme destacou Mingoti (2007).

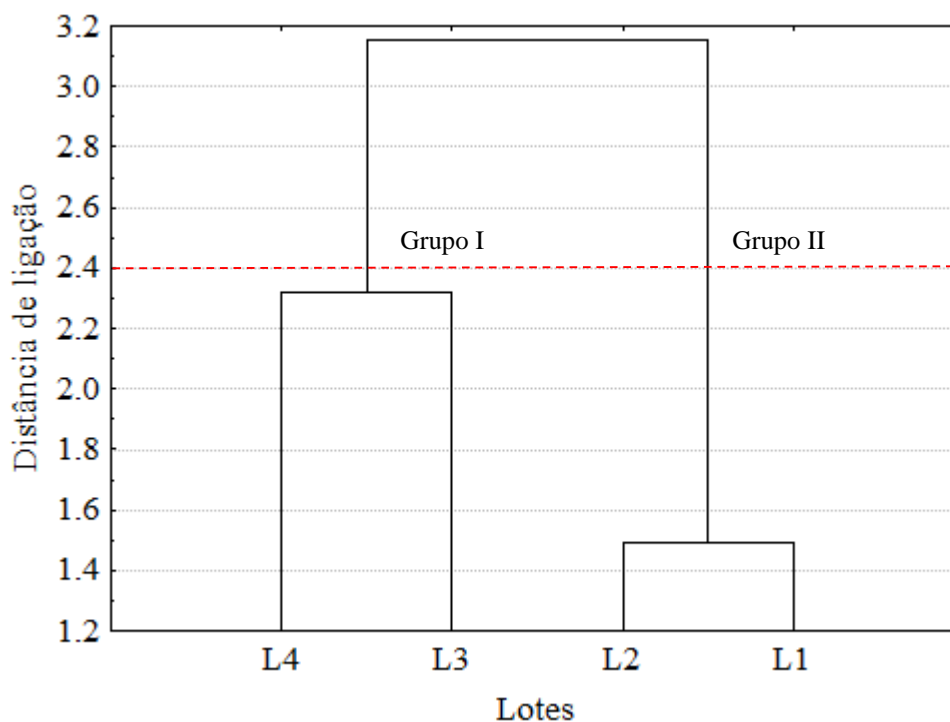


Figura 2.1 - Agrupamentos de lotes de sementes de arroz (L1, L2, L3 e L4), cultivar BRS Sertaneja em função da distância euclidiana e do método de ligação média (UPGMA)

Com relação à análise de componentes principais, a primeira nova componente (CP_1), gerada pela combinação dos testes de vigor avaliados (germinação, de envelhecimento acelerado, de frio e de condutividade elétrica), teve autovalor de 2,88 do total de 4, ou seja,

representou 72,0% da variabilidade total dos dados. Para a segunda componente (CP₂) o autovalor foi inferior, representando apenas 21,5% da variabilidade. Esses dois valores somaram mais de 80% da variabilidade total dos dados, valor considerado ideal para selecionar o número de componentes principais para o estudo como foi considerado por Jolliffe (2002).

As componentes que mais representaram a variabilidade dos dados (CP₁ e CP₂) foram nomeadas em função dos pesos atribuídos pela análise matemática para cada teste de vigor avaliado, para facilitar a interpretação de cada nova componente. Assim, os resultados da análise dos componentes principais, representados pelo gráfico “biplot” (Figura 2.2), indicaram que a primeira componente (CP₁) foi a soma linear entre os resultados dos testes de germinação, de envelhecimento acelerado e de frio com a subtração do resultado do teste de condutividade elétrica, aos quais foram atribuídos pesos em função da importância do teste na variabilidade dos resultados, ou seja, $CP_1 = 0,51*(\text{germinação padronizada}) + 0,34*(\text{envelhecimento acelerado padronizado}) + 0,58*(\text{teste de frio padronizado}) - 0,53*(\text{condutividade elétrica padronizada})$. Portanto, conforme proposto, a primeira nova componente (CP₁) foi nomeada de “parâmetro fisiológico”, uma vez que representa a soma dos resultados avaliados para as sementes de arroz dos quatro lotes (testes de germinação, de envelhecimento acelerado e de frio) e da subtração do resultado do teste de condutividade elétrica, ou seja, ao inserir os resultados dos parâmetros avaliados transformados para média zero e variância 1 para cada lote (testes de germinação, de envelhecimento acelerado, de frio e de condutividade elétrica) na equação gerada pela CP₁ um resultado numérico é gerado para cada lote, sendo que, quanto maior for o valor de CP₁ mais vigoroso é o lote de sementes, caracterizado pela superioridade do conjunto de resultados denominado de “parâmetro fisiológico”.

Logo, os resultados obtidos, após os valores serem substituídos na equação de CP₁ indicaram que para as sementes dos lotes L3 e L4 foram os que apresentaram os maiores valores e, assim, possibilitaram classificar essas sementes como vigorosas. Por outro lado, os resultados dos lotes L1 e L2 apresentaram valores menores para CP₁ indicando que essas sementes não são vigorosas. Esse resultado é compatível com os observados na análise de agrupamento, quando foi estabelecida a distância de ligação de 2,4, em que os resultados dos lotes L3 e L4 foram similares entre si, da mesma forma que houve similaridade entre os resultados dos L1 e L2 e essas similaridades podem ser atribuídas ao nível de vigor das sementes desses lotes.

A segunda componente (CP₂) do “biplot” foi denominada de probabilidade de desempenho em condição adversa de temperatura, superior à recomendada para a germinação da semente, pois o peso para o cálculo da segunda componente foi maior para o teste de envelhecimento acelerado (0,88) nessa nova combinação linear dos parâmetros $CP_2 = -0,47*(\text{germinação padronizada}) + 0,88*(\text{envelhecimento acelerado}) + 0,00*(\text{teste de frio padronizado}) + 0,10*(\text{condutividade elétrica padronizada})$. Desse modo, os resultados da avaliação das sementes do lote L3 destacaram-se como os de maior valor numérico para

essa segunda nova componente, ou seja, probabilidade de desempenho superior em condições adversas de temperatura.

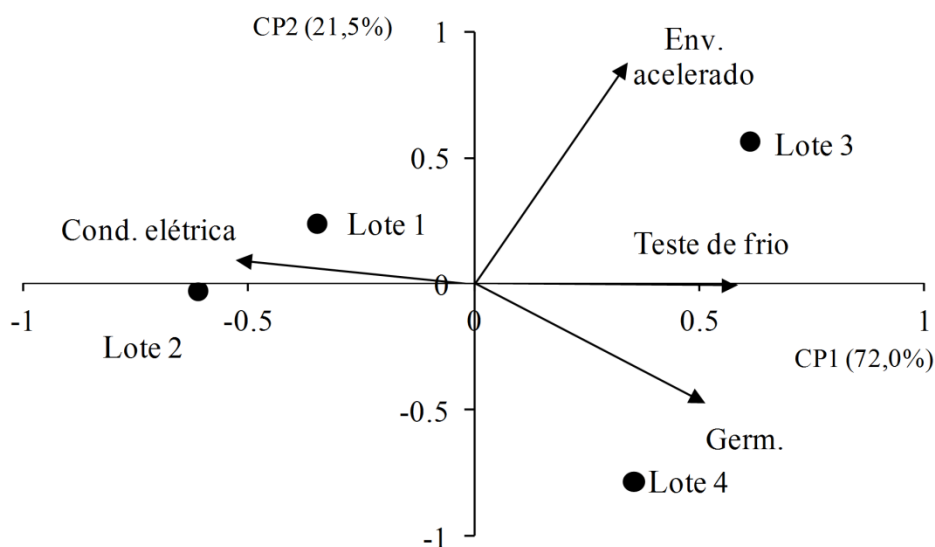


Figura 2.2 - Gráfico “biplot” obtido a partir da análise de agrupamento de quatro resultados de avaliação da qualidade das sementes de arroz, cultivar BRS Sertaneja, lotes L1, L2, L3 e L4

Ainda, em relação à análise de componentes principais, foi obtida a matriz de correlação por meio de cálculos matemáticos (Tabela 2.3). O resultado do teste de frio teve correlação positiva com o resultado do teste de germinação, enquanto que o resultado do teste de condutividade elétrica teve correlação negativa com o do teste de germinação. O resultado do teste de envelhecimento acelerado praticamente não teve correlação com os demais testes aplicados às sementes e o teste de frio foi o que apresentou correlação positiva com os dados da germinação.

Tabela 2.3 - Matriz de correlação obtida a partir dos resultados dos testes de germinação (TG), de envelhecimento acelerado (TEA), de frio (TF) e de condutividade elétrica (TCE) das sementes de arroz, cultivar BRS Sertaneja, quatro lotes (L1, L2, L3 e L4)

Correlação	TG	TEA	TF	TCE
TG	1,00	-	-	-
TEA	0,16	1,00	-	-
TF	0,89	0,57	1,00	-
TCE	-0,71	-0,40	-0,84	1,00

2.5 Discussão

O desafio da utilização dos resultados dos testes de vigor para estimar a qualidade das sementes é a dificuldade de obtenção de testes que sejam padronizáveis e com os resultados

reproduzíveis. Desse modo, em sua edição de 2012, a ISTA indica apenas os testes de envelhecimento acelerado para as sementes de soja e de condutividade elétrica para as sementes de ervilha para estimar o vigor das sementes. Para as sementes de outras espécies, periodicamente, são feitas adaptações, visando obter resultados compatíveis com o parâmetro fisiológico das sementes. Logo, uma série de testes está disponível para a seleção e uso, entretanto, muitas vezes, os resultados não são compatíveis entre si. O que tem sido observado em comum é o uso de mais de um teste de vigor para avaliação do parâmetro fisiológico das sementes e, ainda assim, os resultados dos testes têm diferenças (YAGUSHI; COSTA; FRANÇA-NETO, 2014). Assim, muitos testes de vigor apresentam resultados diferentes, dificultando a interpretação do resultado final e a decisão a respeito da qualidade das sementes dos lotes. Desse modo, é interessante a criação de um número único que defina o parâmetro fisiológico das sementes e que possibilite caracterizar a qualidade das sementes de modo claro e objetivo. Nesse sentido, de acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa, a análise multivariada é uma possibilidade para evitar esse problema. Conforme observado, a primeira componente (CP_1) gerada pela análise multivariada criou um índice a partir do qual foi possível determinar que o maior valor desse índice está relacionado com sementes vigorosas, tal como as sementes dos lotes L3 e L4 (Figura 2.2).

A definição de vigor proposta pela ISTA (2012) considera que o vigor é a soma de atributos que conferem à semente o potencial para germinar e à plântula emergir em ampla diversidade de condições ambientes. A primeira componente do gráfico “biplot” (CP_1), pela nomeação atribuída de “parâmetro fisiológico”, representou a soma dos resultados dos testes de vigor agrupados em uma combinação linear. Considerando o conceito proposto pela ISTA (2012) e em função dos resultados dessa pesquisa é possível afirmar que a primeira componente caracteriza o nível de vigor das sementes de um lote. Desse modo, os resultados da avaliação das sementes dos lotes L3 e L4 foram superiores para a primeira componente, enquanto os resultados da avaliação das sementes dos lotes L1 e L2 tiveram os menores valores, reafirmando os grupos observados na análise de agrupamento, os quais classificaram a qualidade das sementes desses lotes em grupos distintos.

Além desses resultados, é possível complementar as observações por meio da análise do gráfico “biplot”. A projeção perpendicular (formando um ângulo de 90°) dos “pontos”, que representam cada lote de sementes em cada “seta” (autovetor) dos parâmetros avaliados (testes de germinação, de envelhecimento acelerado, de frio e de condutividade elétrica), indica uma dimensão do valor numérico das sementes do lote para aqueles parâmetros partindo da origem do autovetor. Por exemplo, a projeção perpendicular do lote L3 sobre a “seta” (autovetor)

representativa do teste de envelhecimento acelerado tem maior comprimento do que a projeção perpendicular do lote L1, similar aos resultados observados na Tabela 2.1 para os quais os valores dos resultados do teste de envelhecimento acelerado para as sementes do lote L3 são maiores do que os do lote L1. Desse modo, é possível observar a relação de cada lote com cada teste de vigor aplicado para estimar a qualidade das sementes por meio de projeções, o que facilita a interpretação e confere uma visão geral dos resultados de vigor.

Outra informação relevante é que os resultados do teste de frio correlacionaram-se com os da germinação das sementes de arroz (Tabela 2.3). O arroz é uma planta que tem variabilidade genética, entretanto a subespécie indica, a que é a base da maioria dos cultivares desenvolvidos para cultivo na região tropical, tem pouca tolerância ao frio (BOSSETI et al., 2012). Assim é possível inferir que o teste de frio é eficiente para identificar as sementes, de lotes ou de cultivares, que têm germinação adequada em condições de temperaturas reduzidas.

2.5 Conclusão

A análise estatística multivariada, por meio da análise de agrupamento combinada à análise dos componentes principais, é eficiente e pode ser utilizada de forma complementar para a classificação da qualidade das sementes de arroz, avaliada por testes de vigor.

Referências

- BARBOSA, R.M.; VIEIRA, B.G.T.L.; FERRAUDO, A.S.; CORÁ, J.E.; VIEIRA, R. D. Discrimination of soybean seed lots by multivariate exploratory techniques. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n.3, p.302-310, Dez.2013.
- BOSETTI F.; MONTEBELLI, C.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; CHAMMA H.P.; PINHEIRO, J.B. Genetic variation of germination cold tolerance in Japanese rice germplasm. **Breeding Science**, Tokyo, v.62, n.3, p.209-215, Sept. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.
- EGLI, D.B.; RUCKER, M. Seed vigor and the uniformity of emergence of corn seedlings. **Crop Science**, Madison, v.52, n.6, p.2774-2782, Oct. 2012.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 2006. 306p.
- GITTI, D.; ARF, O.; KANEKO, F.; RODRIGUES, R. Densidade de plantas em arroz de terras altas irrigado por aspersão. **Agrarian**, Dourados, v.6, n.20, p.130-139, Jan. 2013
- ISTA - International Seed Testing Association. 2012. **Handbook of vigour test methods**. 3rd .ed. Zürich: ISTA, 2012. 117p.

JOLLIFFE, I.T. **Principal Component Analysis**. 2nd ed. New York: Springer-Verlag New York, 2002. 487p.

LIPKOVICH, I.A.; SMITH, E.P. Biplot and singular value decomposition macros for Excel[®]. **Journal of Statistical Software**, Los Angeles, v.7, n.5, p.1-15, Jun. 2002.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in relation evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, Mar. 1962.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: UFMG, 2007. 297p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2013. Seção 1, p.16

PATIN, A.L.; GUTORMSON, T.J. Evaluating rice (*Oryza sativa* L.) seed vigor. **Seed Technology**, Lincoln, v.27, n.1, p.115-120, Jan. 2005.

TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field emergence. **Crop Science**, Madison, v.17, p.573-577, Jul. 1977.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste da condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA R.D.; NETO J.B.F. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES: 1999. 218p.

YAGUSHI, J.T.; COSTA, D.S.; FRANÇA-NETO, J. de B. Saturated salt accelerated aging and computerized analysis of seedling images to evaluate soybean seed performance. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.36, n.2, p.213-221, Oct. 2014.

3 UTILIZAÇÃO DO OXIGÊNIO COMO INDUTOR DE DETERIORAÇÃO EM SEMENTES ARROZ

Resumo

A caracterização do potencial oxidante das moléculas de oxigênio recentemente despertou interesse para identificar o potencial negativo desse gás durante o armazenamento de sementes. Um método promissor para esse tipo de avaliação é o aumento parcial da pressão atmosférica, aumentando a pressão de oxigênio e a interação do oxigênio com as células vegetais. O objetivo dessa pesquisa foi verificar a interferência do oxigênio na deterioração das sementes de arroz, armazenadas com diferentes teores de água iniciais, por meio da técnica do aumento parcial da pressão atmosférica. Sementes de arroz dos cultivares EPAGRI-109 (dois lotes) e BRS-Sertaneja (um lote) foram mantidas em ambiente com umidades relativas do ar de 39%, 55% e 76%, para obtenção de sementes com teores de água aproximados de 9%, 11% e 13%, respectivamente e, em seguida, armazenadas, por períodos de 0, 2, 4 e 8 semanas, com aumento da pressão do ar atmosférico (20MPa), nitrogênio e hélio e em pressão atmosférica de 0,1MPa. Houve redução da protrusão da raiz primária, da germinação e da área abaixo da curva de germinação após 100 horas de teste e aumento do t50 em sementes armazenadas com aumento da pressão do ar atmosférico. O nitrogênio reduz a qualidade das sementes armazenadas com 13,3% de água. Para os resultados da utilização do hélio com aumento de pressão teve resultados similares as sementes que foram armazenadas em 0,1 MPa. Portanto, o aumento do teor de água das sementes causa redução da qualidade das sementes de arroz quando há o aumento da pressão atmosférica. O aumento parcial da pressão atmosférica causa redução da qualidade das sementes de arroz, sendo a redução atribuída na maior parte ao efeito da oxidação proporcionada pelo oxigênio. O aumento parcial da pressão de nitrogênio causa redução na qualidade de sementes de arroz, entretanto não há interferência do aumento da pressão do gás hélio na qualidade das sementes de arroz.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Oxidação; Vigor

Abstract

The discovery of the oxidizing potential of oxygen molecules newly awakened interest to identify the effects during seed storage. A promising method for this type of evaluation is through the elevated partial pressure of atmosphere gas, increasing the oxygen pressure and its effects on plant cells. The objective of this research was to investigate the influence of oxygen in the deterioration of seeds through the elevated partial pressure of atmospheric gas in rice seeds stored with different degrees of initial moisture. Rice seeds, cultivar EPAGRI-109 (two lots) and BRS-Sertaneja (one lot), were maintained in an environment with relative humidity of air of 39%, 55% and 76%, to obtain seeds with approximate moisture content of 9%, 11% and 13%, respectively, and then stored for periods of 0, 2, 4 and 8 weeks with increased pressure of the atmospheric air (20MPa), helium and nitrogen, and at atmospheric pressure 0,1MPa. Reduction in radicle protrusion, germination and germination area under the curve after 100 hours of testing and increased t50 stored in seeds with increased pressure using atmospheric air (20MPa) were observed mainly after 8 week. The nitrogen reduced seed quality stored with moisture content of 13.3%. Helium with increased pressure had similar results as the ones stored in 0.1 MPa. Therefore, increasing the water content of the seeds causes reduction of quality of rice seeds when there is increased air pressure. The partial increase in atmospheric pressure causes reduced quality of rice seeds, the reduction is because mostly to the effect of oxidation provided by oxygen. The increased nitrogen partial pressure causes a reduction in the quality of rice seeds, however there is no interference increasing the helium pressure in the quality of rice seeds.

Keywords: *Oryza sativa* L.; Oxidation; Vigor

3.1 Introdução

Estudos sobre a deterioração de sementes durante o armazenamento são importantes, porque as empresas querem conservar as sementes de forma segura, sem interferência negativa na viabilidade, os melhoristas querem selecionar sementes longevas e os pesquisadores querem entender quais são os processos envolvidos na deterioração que caracterizam o envelhecimento das sementes.

Para atingir esses objetivos, pesquisadores têm utilizado o armazenamento para entender os processos envolvidos na deterioração das sementes. Entretanto, esse tipo de abordagem demanda tempo e tem um custo relativamente alto. Desse modo, métodos artificiais, tais como os testes de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada, são frequentemente utilizados como meio para o estudo da deterioração, por promoverem redução rápida da qualidade das sementes (RAJJOU et al., 2008; BARBOSA; COSTA; SÁ, 2011;). Contudo, esses dois testes não representam as condições reais de armazenamento das sementes ortodoxas, especialmente devido ao teor de água que as sementes têm após a exposição às condições do teste de envelhecimento acelerado, que não tem relação com o que ocorre durante o armazenamento natural das sementes, no qual as sementes têm menos de 11% de água. Para as sementes de arroz, por exemplo, teores de água seguros para o armazenamento em longo prazo são 9,3% a 14,0% (PADERES; MEW; ILAG, 1996) enquanto que no final do teste de envelhecimento acelerado essas sementes atingem, aproximadamente, 26% de água, como afirmaram Tunes; Tavares e Barros (2012). A temperatura utilizada nesse teste, 42°C (PATIN e GUTORMSON, 2005), é também superior a usual do ambiente de armazenamento das sementes de arroz.

Há consenso sobre a influência da temperatura do ar e da quantidade de água das sementes na deterioração, mas em condições em que esses dois fatores são favoráveis ao armazenamento o processo de oxidação ocorre e causa a deterioração das sementes. Recentemente, uma nova técnica, baseada no aumento parcial da pressão de oxigênio, foi desenvolvida para o estudo da deterioração de sementes, em condições de umidade relativa do ar e temperatura próximas às recomendadas para o armazenamento das sementes ortodoxas e verificar a interferência do oxigênio durante o armazenamento de sementes (GROOT et al., 2012). Nessas condições, os resultados mostraram que a oxidação é a principal causa da deterioração das sementes de alface, soja, cevada e repolho.

As sementes possuem alguns mecanismos de defesa para prevenir a oxidação como compostos fenólicos, enzimas antioxidantes e o estado vítreo. Os compostos fenólicos captam o oxigênio ativo, enquanto as enzimas do sistema antioxidante convertem elementos potencialmente oxidantes em moléculas de baixo potencial oxidativo e o estado vítreo reduz a velocidade das reações citoplasmática (BAILLY, 2004; BERNAL-LUGO; LEOPOLD, 1998).

O método em que há o aumento da parcial da pressão de oxigênio desenvolvido por Groot et al. (2012) reduz os níveis de tocoferol, que já foi relacionado com a qualidade das sementes, possibilitando inferir que os processos oxidativos ocorrem em sementes secas e armazenadas em temperatura reduzidas sob tais condições.

Portanto, o método em que há o aumento da pressão parcial pode ser utilizado para o estudo de armazenamento de sementes, em condições que se assemelham às utilizadas na realidade, entretanto, com algumas adaptações são necessárias. O objetivo dessa pesquisa foi verificar a influência do oxigênio na deterioração das sementes de arroz por meio da técnica em que há o aumento parcial da pressão atmosférica, armazenadas com diferentes graus de umidade iniciais.

3.2 Material e Métodos

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) do cultivar EPAGRI-109, dois lotes comerciais (L001 e L002), doadas pela Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI, Taubaté, SP) e sementes de arroz do cultivar BRS-sertaneja (L1). Inicialmente, as sementes foram homogeneizadas e mantidas em ambiente com 38% de umidade relativa do ar e 20°C, em embalagem impermeável de alumínio, resultando em um teor de água inicial de $9,9 \pm 0,8\%$ (base úmida) e, então, armazenadas a -28°C; as sementes foram mantidas nessas condições por aproximadamente dois meses. No dia anterior ao do início da pesquisa, as sementes foram retiradas do freezer e mantidas a 20°C por 24 horas.

Amostras das sementes de arroz (dos três lotes) foram expostas por duas semanas à temperatura de 20°C e umidades relativas de 39%, 55% e 76%, obtidas por meio de soluções salinas de $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaBr e NaCl, respectivamente, para obtenção de sementes com teores de água aproximados de 9%, 11% e 13%. As atmosferas com umidade relativa diferenciadas foram criadas no interior de caixas plásticas fechadas contendo o sal úmido relativo a umidade relativa do ar almejada no fundo e um “cooler” de computador para circulação de ar. As sementes permaneceram fora do contato com o sal em uma superfície plástica no interior da caixa. Adicionalmente, foram colocados nas caixas sacos de poliamida contendo sílica gel seca (200g) para que também atingissem as umidades relativas especificadas. Posteriormente, esses

sacos contendo sílica gel foram utilizados para manter a umidade relativa do ar constante no interior dos tanques de aço, conforme proposto por Piechota (1993).

Após duas semanas nessas condições, as amostras de sementes, mantidas em cada uma das umidades relativas, foram colocadas em tubos de poliestireno (13ml) contendo várias perfurações de aproximadamente 1mm e fechados com tampas de poliestireno de baixa densidade.

Os tubos de poliestireno contendo as sementes e os sacos de poliamida contendo sílica gel para cada umidade relativa de equilíbrio foram, então, colocados no interior de tanques de aço (1,5 L) por períodos de 2, 4 e 8 sementes com pressão de 20 MPa (Figura 3.1 A) ou em recipiente de vidro, com a tampa vedada com borracha para evitar alterações na umidade relativa do ar, contendo ar atmosférico com pressão atmosférica de 0,1MPa (Figura 3.1 B). Para o aumento da pressão até 20MPa foi utilizado ar comprimido (78% N₂ e 21% O₂) com o objetivo de aumentar a concentração de todos os gases, denominado nessa pesquisa de APPAR (aumento parcial da pressão do ar atmosférico), nitrogênio (100% N₂) com o objetivo de aumentar a concentração desse gás e hélio (100% He) com o objetivo de aumentar a concentração, sendo este último utilizado apenas para amostras em equilíbrio com 76% de umidade relativa do ar (visando obter teor de 13,3% de água nas sementes).

Para promover o aumento da pressão no interior dos tanques de aço, os tanques fechados foram mantidos parcialmente imersos em água (temperatura aproximada de 20°C) e preenchidos com gás na taxa de 0,1MPa por segundo até atingirem, aproximadamente, 18MPa, usando um tanque de maior volume como origem dos gás. Em seguida, foi utilizada uma bomba propulsora para atingir pressão de 20 MPa.

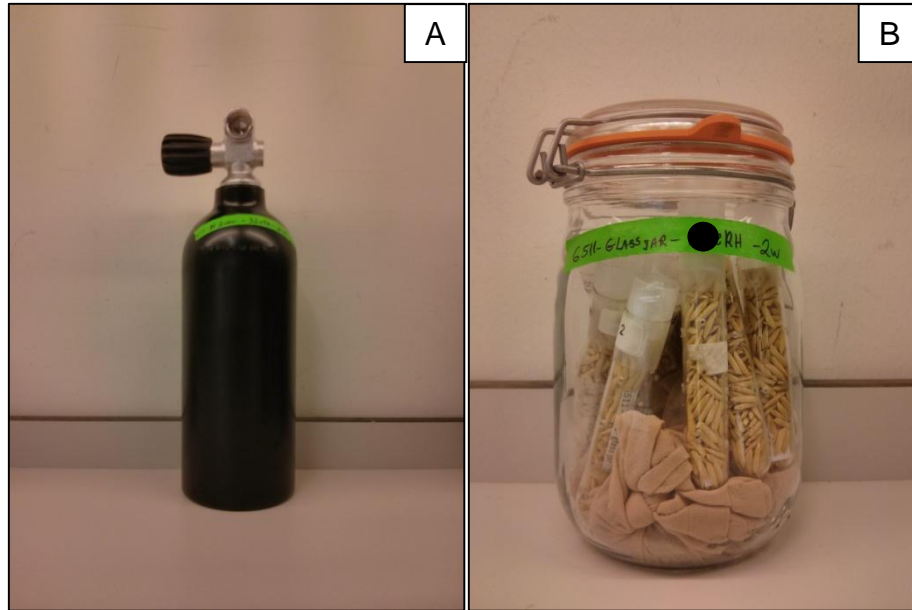


Figura 3.1 – A - Tanque de aço, pressão atmosférica de 20 MPa e 39% de umidade relativa, contendo sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, L001 e sílica gel. B- Recipiente de vidro, pressão atmosférica (0,1MPa) e 39% de umidade relativa, contendo sementes de arroz, cultivar EPAGRI -109, L001 e sílica gel

Os tanques de aço e o de vidro contendo as amostras de sementes foram mantidos a 20°C. Após os períodos propostos a pressão dos tanques foi liberada, numa taxa máxima de 5% por minuto, usando um controlador de fluxo de pressão a partir de um software instalado em um computador (EPPO Flow Control V1.1) (Figura 3.2). Em seguida, as sementes foram mantidas a 38% de umidade relativa do ar e 20°C de temperatura por duas semanas, para o equilíbrio da água das sementes de todas as situações propostas.



Figura 3.2 - Controlador de fluxo de pressão, monitorado por software para reduzir a pressão dos tanques de aço

Para analisar a qualidade das sementes foram utilizadas 200 sementes, separadas em quatro repetições de 50 cada, foram semeadas sobre papel e então colocadas em germinador, a 30°C, com luz contínua, por quatorze dias (BRASIL, 2009). Após a semeadura, diariamente foi registrado o número de sementes germinadas. No final do décimo quarto dia a classificação foi efetuada, conforme os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). A partir dos dados obtidos das avaliações diárias foram calculadas a máxima germinação, a velocidade de germinação e a área abaixo da curva de germinação após 100 horas de hidratação (combinação entre a germinação máxima e o tempo para 50% das sementes germinarem que geram uma área que é considerada um índice de qualidade de sementes), calculada por meio do módulo de ajuste de curva, do software Germinator (JOOSEN et al., 2010). A Figura 3.3 exemplifica cada avaliação realizada.

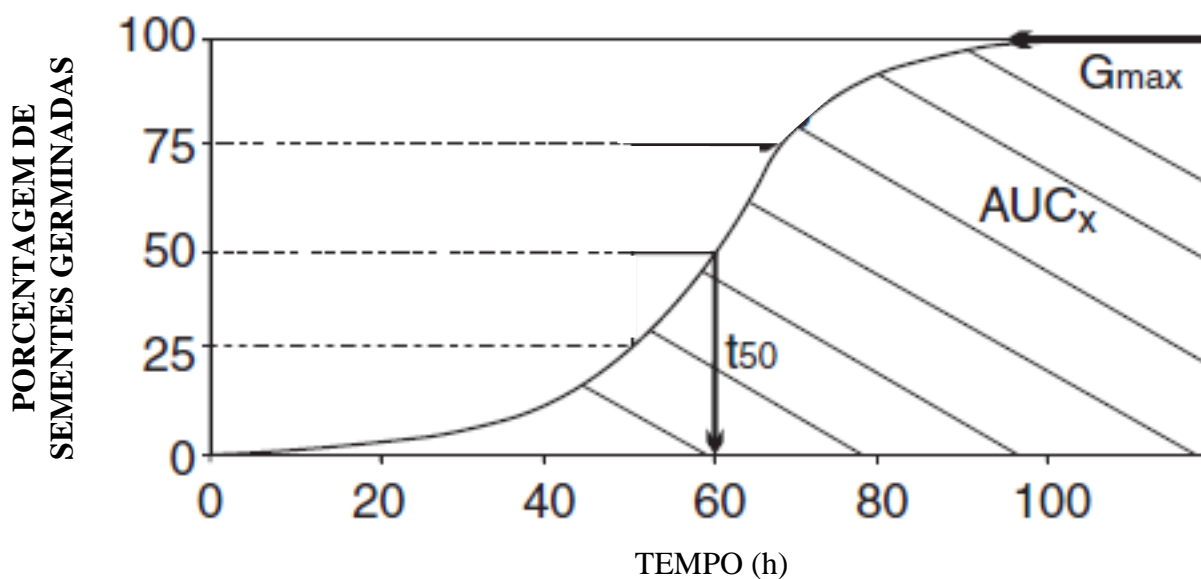


Figura 3.3 - Curva de germinação acumulada indicando valores de máxima germinação (G_{max}), a velocidade de germinação (t_{50}) e a área abaixo da curva de germinação após 100 horas de hidratação (AUC_x)

O delineamento experimental utilizado para condução do experimento foi em blocos ao acaso com quatro repetições. As análises da variância foram realizadas individualmente para cada teor de água das sementes e para cada semana de armazenamento e, quando o valor de F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Adicionalmente, foi considerado um controle experimental a média das repetições em todas as semanas das sementes armazenadas em ar atmosférico 0,1Mpa o qual foi comparado individualmente com todas as outras condições por meio do teste t de Student a 5% de probabilidade.

3.3 Resultados

As sementes de arroz foram mantidas por duas semanas em cada ambiente com umidades relativas controladas de 39%, 55% e 76% para uniformização do teor de água das sementes. Após a uniformização das sementes nas umidades relativas do ar propostas os teores de água determinados foram 9,5%, 11,5% e 13,3% de água (Tabela 3.1). Em seguida, as sementes foram mantidas em tanques de aço com aumento da pressão por meio da adição de ar comprimido, de nitrogênio e de hélio, pelos períodos de 2, 4 e 8 semanas; conforme dados apresentados (Tabela 3.1), em que os teores de água mantiveram-se próximos aos valores iniciais para cada umidade relativa do ar de equilíbrio utilizada (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Teores de água de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote 001, durante o armazenamento em gases com diferentes pressões e períodos

Armazenamento	Inicial	2 semanas	4 semanas	8 semanas
39% UR				
Recipiente de vidro (ar atmosférico)	9,5%	9,6%	9,5%	9,3%
Tanque de aço (APPAR)	-	10,0%	9,9%	10,0%
Tanque de aço (N ₂)	-	-	9,9%	9,9%
55% UR				
Recipiente de vidro (ar atmosférico)	11,5%	11,5%	11,5%	11,5%
Tanque de aço (APPAR)	-	12,0%	11,7%	11,7%
Tanque de aço (N ₂)	-	-	11,8%	11,6%
76% UR				
Recipiente de vidro (ar atmosférico)	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%
Tanque de aço (APPAR)	-	14,0%	13,8%	13,6%
Tanque de aço (N ₂)	-	-	13,7%	13,4%
Tanque de aço (He)	-	-	-	13,1%

Conforme proposto nessa pesquisa a pressão de 20 MPa foi atingida em todos os tanques de aços utilizados nesse estudo. Baseada na composição natural dos gases do ar atmosférico foi determinada a pressão parcial, considerando a pressão do gás predominante no interior dos tanques (Tabela 3.2). Desse modo, as pressões parciais de oxigênio, nitrogênio e hélio foram calculadas em aproximadamente 200 vezes o valor inicial. Nos tanques em que o nitrogênio e o hélio foram adicionados não houve remoção do ar natural já contido no interior o que fez com que concentrações mínimas desses elementos fossem mantidas. Em função das informações preliminares obtidas o gás hélio foi utilizado nos tanques com umidade relativa do ar de 76% (teor de água das sementes de 13,3%), pois foi observado influência negativa no desenvolvimento inicial das plântulas quando apenas utilizou o aumento da pressão do nitrogênio.

Tabela 3.2 - Pressão de gases do interior dos tanques em função da composição do ar atmosférico contendo 21% de oxigênio, 78% nitrogênio, 0,0005% Hélio e 0,9995% outros gases

Armazenamento	Pressão total	O ₂	N ₂	He	Outros gases
MPa.....				
Recipiente de vidro (ar atmosférico)	0,1	0,021	0,078	5×10^{-7}	$9,995 \times 10^{-4}$
Tanque de aço (APPAR)	20	4,2	15,6	1×10^{-4}	0,1999
Tanque de aço (N ₂)	20	0,021	15,6	5×10^{-7}	$9,995 \times 10^{-4}$
Tanque de aço (He)*	20	0,021	0,078	1×10^{-4}	$9,995 \times 10^{-4}$

* Sementes com teor de água em equilíbrio com 76% UR do ar.

A interferência do aumento da pressão dos gases para as sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L001, pode ser observada nas Figuras 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6. Nos Apêndices A, B, C e D os resultados aplicados para as sementes do lote L002 do mesmo cultivar foram apresentados.

Não ocorreu redução significativa da protrusão da raiz primária, tanto para os gases quanto ao longo do tempo, para as sementes que tinham 9,5% e 11,5% de água (Figura 3.4). Para o ambiente com aumento de pressão até 20MPa de todos os gases utilizando ar comprimido (APPAR) foi verificada redução da protrusão da raiz primária na segunda, quarta e oitava semana de armazenamento das sementes com 13,3% de água. Na medida em que aumentou o tempo de armazenamento das sementes com o nitrogênio em aumento de pressão (20MPa) houve também redução na protrusão da raiz primária. Para os resultados do armazenamento das sementes com o gás hélio em aumento de pressão (20MPa) e para os das sementes armazenadas em recipiente de vidro (ar atmosférico 0,1 MPa) não foram verificadas reduções significativas dos resultados relacionados à protrusão da raiz primária para sementes com 13,3% de água.

Para os resultados da velocidade de germinação, avaliada pelo t₅₀ (tempo requerido para 50% das sementes emitirem a raiz primária), foram observadas evidências da deterioração das sementes, mesmo para as sementes armazenadas com 9,5% de água, em aumento da pressão do ar atmosférico utilizando o ar comprimido (APPAR), resultando no aumento do tempo requerido para 50% das sementes germinarem (Figura 3.5). Ao final de oito semanas de armazenamento foi observada diferença entre os resultados do controle experimental (média das repetições de todas as semanas em que as sementes foram mantidas em ar atmosférico 0,1MPa) e as sementes armazenadas com aumento de pressão atmosférica por meio do teste t de Student.

Para sementes com 11,5% de água (Figura 3.5) foram observados aumentos no valor do t50 na quarta e oitava semanas de armazenamento, quando foi utilizado o ar comprimido para aumentar a pressão atmosférica (APPAR). Nessa condição não foram verificadas diferenças para as sementes armazenadas em ambiente com nitrogênio ou para as mantidas em recipiente de vidro com pressão atmosférica de 0,1MPa.

Sementes com 13,3% de água (Figura 3.5) apresentaram os maiores incrementos no tempo para 50% das sementes germinarem, principalmente quando as sementes foram armazenadas utilizando ar comprimido para aumento da pressão (APPAR). Não foi observado incremento do tempo para 50% das sementes germinarem para as sementes armazenadas com aumento da pressão de nitrogênio, hélio e em recipiente de vidro com pressão atmosférica de 0,1MPa. Entretanto, comparado com o controle experimental o nitrogênio indicou aumento do t50 das sementes de arroz.

Para a combinação entre a germinação máxima e o tempo para 50% das sementes germinarem foi criado um índice de vigor denominado “área abaixo da curva de germinação após 100 horas” (AUC) (JOOSEN et al., 2010). Esse índice também indicou resultados inferiores para o armazenamento utilizando o ar comprimido, quando houve o aumento da pressão atmosférica (APPAR) e para o nitrogênio (Figura 3.6).

Para sementes com 9,5% de água (Figura 3.6) foi observada a menor área abaixo da curva de germinação após 100 horas (AUC), devido ao armazenamento com aumento da pressão atmosférica usando ar comprimido (APPAR), apenas após 8 semanas de armazenamento, em relação aos resultados das sementes do controle experimental.

Para as sementes com 11,5% de água houve resultado estatisticamente significativo apenas quando foi utilizado ar comprimido para aumento da pressão (APPAR), sendo essa diferença evidenciada na segunda semana de armazenamento. Reforçando os resultados obtidos anteriormente para os resultados relativos à protrusão de raiz primária (Figura 3.4) e ao t50 (Figura 3.5), o armazenamento das sementes com 13,3% de água proporcionou as menores áreas abaixo da curva de germinação após 100 horas para as sementes armazenadas em ar comprimido com aumento de pressão (APPAR), redução essa iniciada já na segunda semana de armazenamento (Figura 3.6). Concomitantemente, foram observados resultados similares para sementes com 13,3% de água para o uso de nitrogênio com aumento de pressão mostrando haver um decréscimo na área abaixo da curva. Tanto o gás hélio com aumento de pressão quanto o recipiente de vidro com ar atmosférico a 0,1MPa não apresentaram redução significativa dos resultados ao longo do período de armazenamento.

A germinação das sementes, caracterizada pelo número de plântulas normais, não foi afetada quando tinham 9,5% e 11,5% de água, nas condições estudadas e nos tempos propostos (Figura 3.7). Entretanto, sementes com 13,3% de água tiveram redução do número de plântulas normais e conseqüente redução do resultado do teste de germinação, para o ar comprimido com aumento de pressão (APPAR) e para o nitrogênio com aumento de pressão, após duas semanas de armazenamento.

Para as sementes de arroz, cultivar BRS-Sertaneja, foram apenas utilizadas as sementes que tinham, aproximadamente, 13,3% de água, uma vez que foram os resultados mais promissores em termos de deterioração, para as avaliações de protrusão de raiz primária, t_{50} e área abaixo da curva de germinação após 100 horas de hidratação (AUC). Os resultados indicaram redução da protrusão da raiz primária, aumento do tempo para 50% das sementes germinarem e menor área abaixo da curva para as sementes armazenadas em condições de aumento de pressão usando o ar comprimido (APPAR) (Figura 3.8).

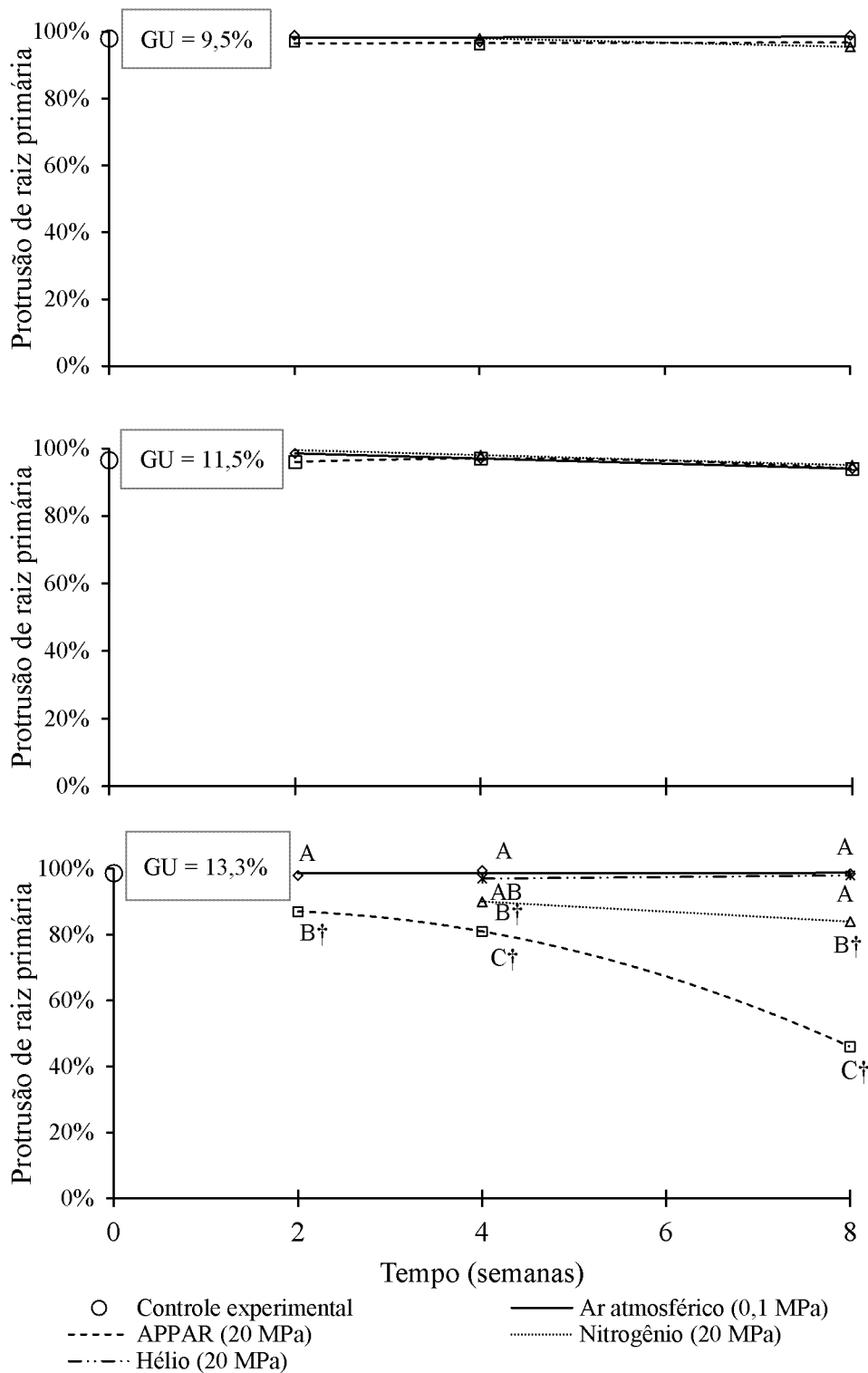


Figura 3.4 – Protrusão da raiz primária das sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L001, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes graus de umidades (GU). Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados com aumento de pressão (20 MPa). † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental

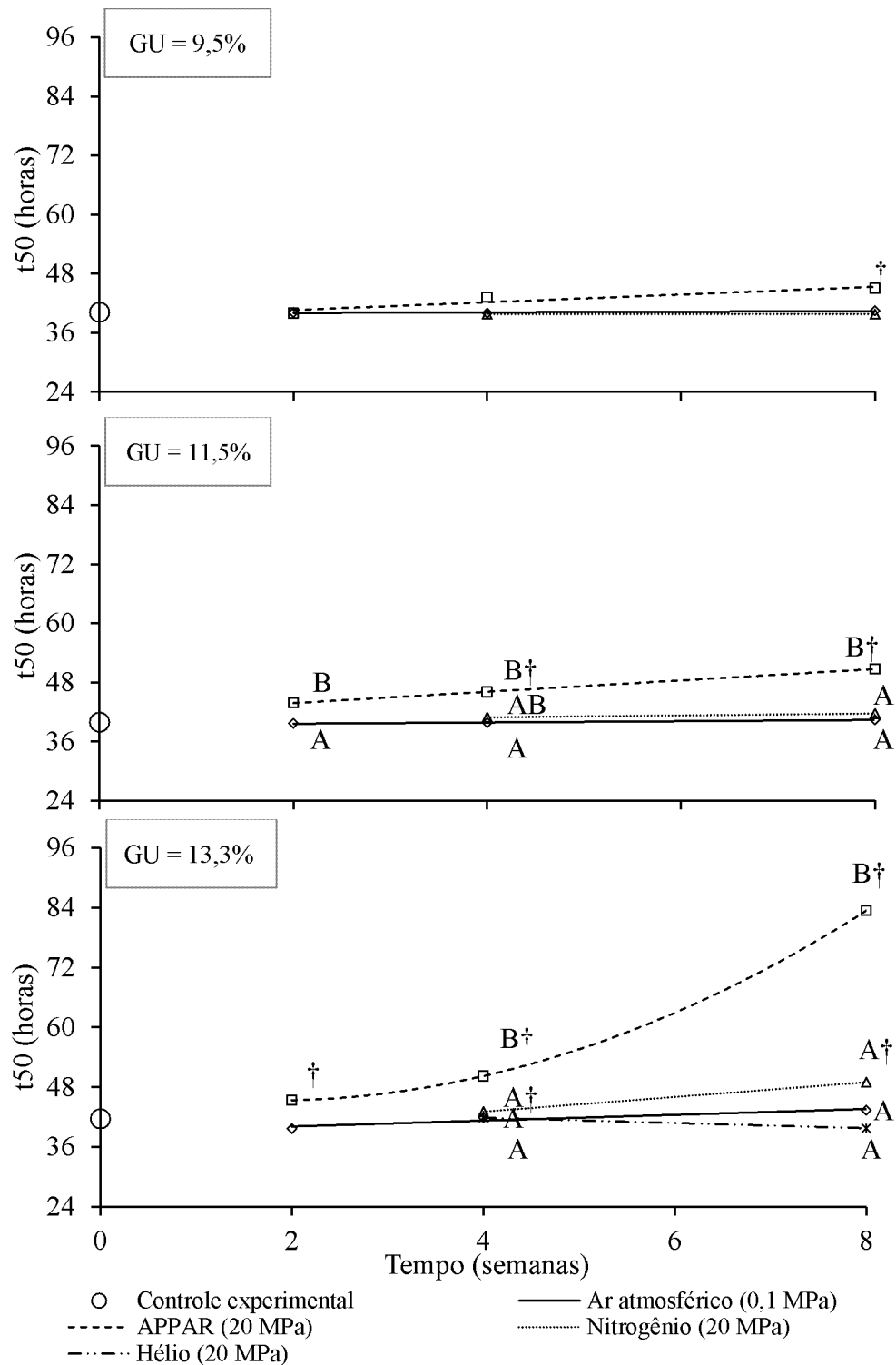


Figura 3.5 – Velocidade de germinação (t_{50}) de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L001, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes graus de umidade (GU). Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados com aumento de pressão (20MPa). † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental

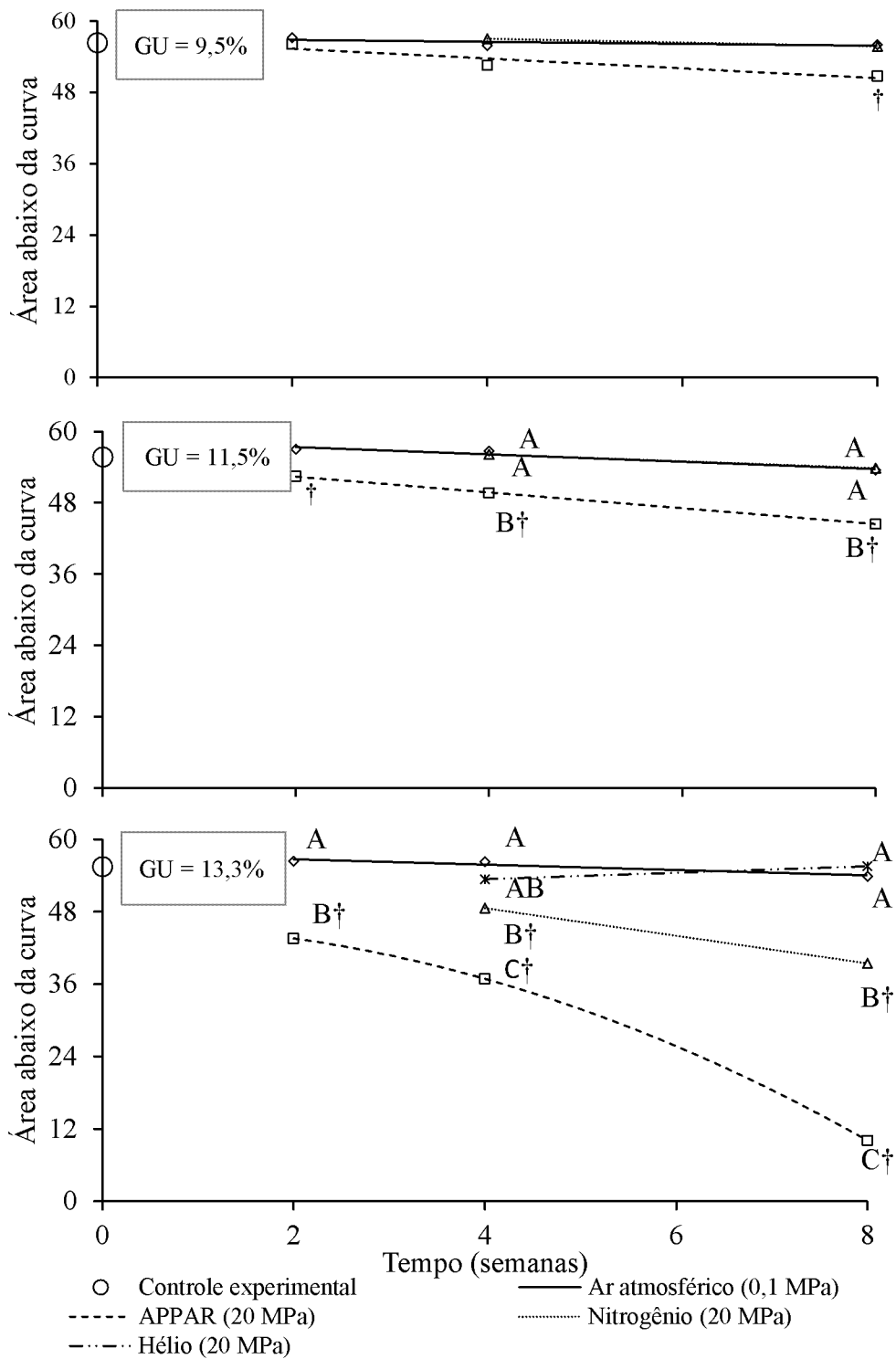


Figura 3.6 – Área abaixo da curva de germinação de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L001, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes graus de umidade (GU). Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados com aumento de pressão (20 MPa). † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental

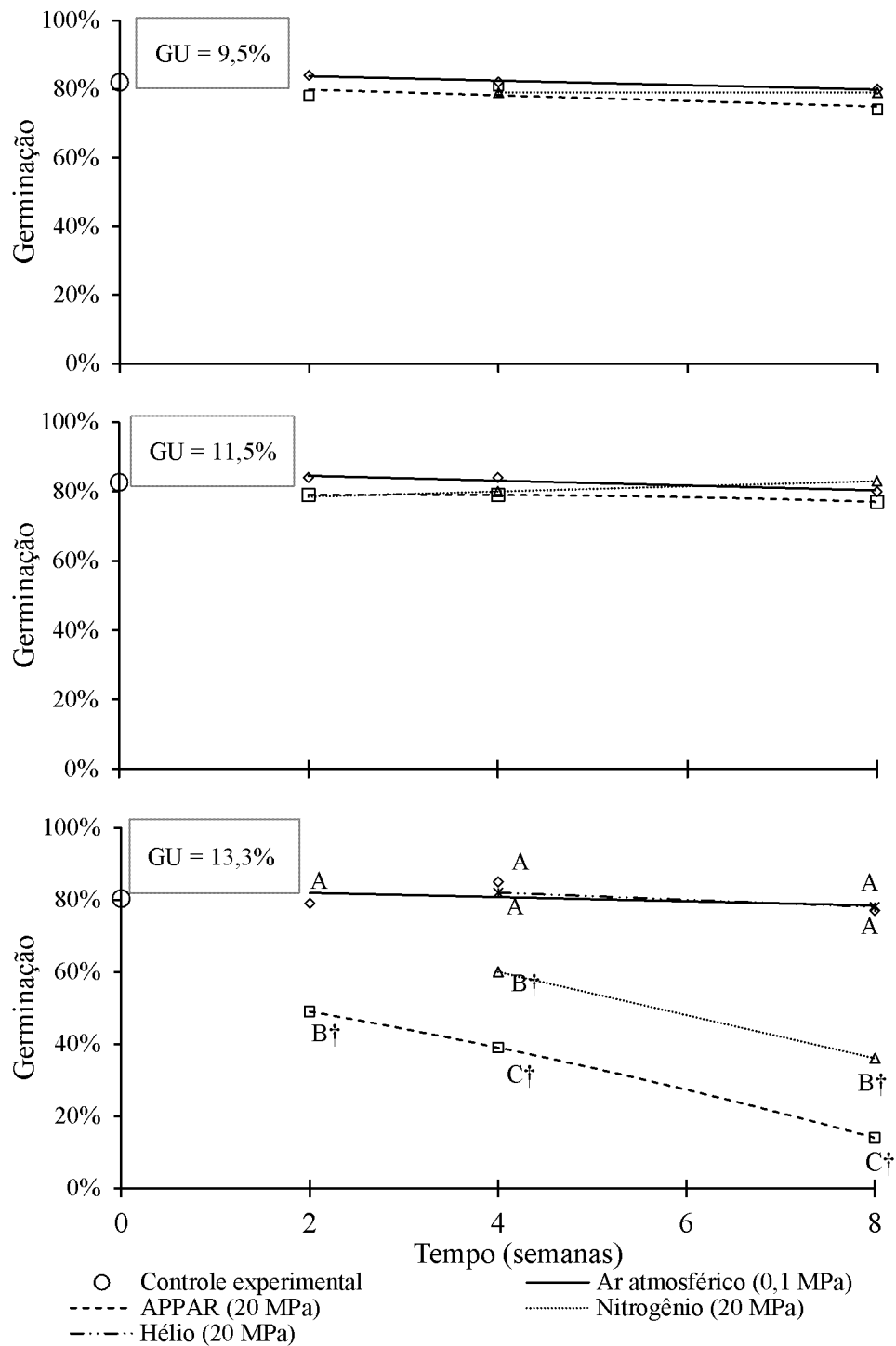


Figura 3.7 – Germinação de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L001, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes graus de umidade (GU). Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados com aumento de pressão (20 MPa). † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental

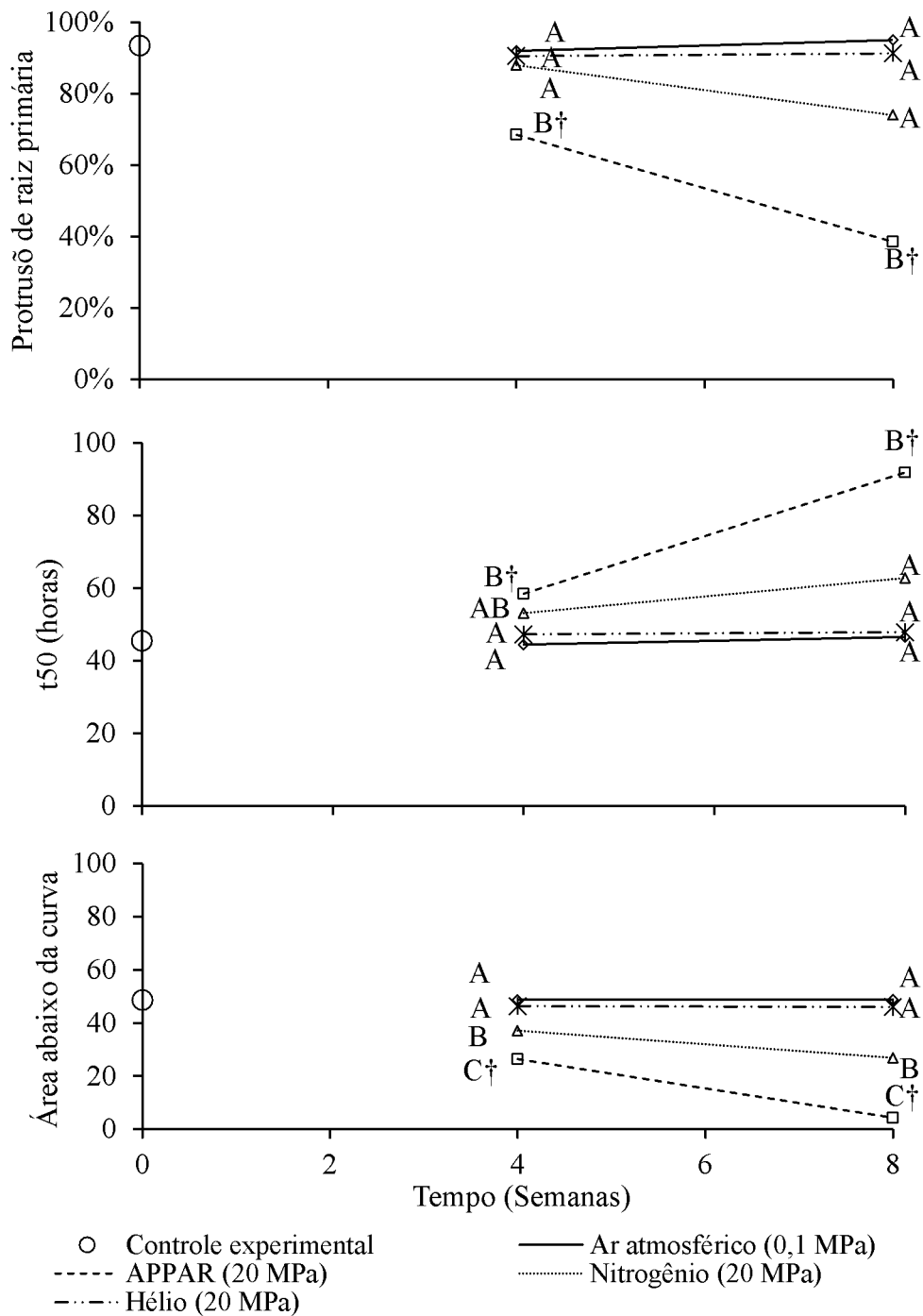


Figura 3.8 – Protrusão de raiz primária, t50 e área abaixo da curva de germinação de sementes de arroz, cultivar BRS-Sertaneja, lote L1, em diferentes períodos de armazenamento com grau de umidade de 13,3%. Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados sob pressão. † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental

3.4 Discussão

O principal componente de reserva do endosperma das sementes de arroz é o amido. O amido é uma substância higroscópica e, em função dessa característica, quando há variação

da umidade relativa do ar ocorrem alterações do teor de água das sementes, conforme evidenciado nessa pesquisa (Tabela 3.1). Inclusive, houve similaridade entre os valores de umidade relativa do ar e os teores de água obtidos e os do modelo proposto por Cromarty et al. (1982) e disponibilizado pelo Kew Royal Botany Gardens (<http://data.kew.org/sid/viability/mc1.jsp>).

O aumento da pressão no interior dos tanques está de acordo com as leis dos gases, propostas por John Dalton em 1801, em que a pressão total exercida por uma mistura de gases é igual à soma das pressões parciais de cada componente individual. Logo, o aumento da pressão total dos gases, até 20 MPa, causou o incremento para cada gás estudado, correspondente a 200 vezes o valor inicial (Tabela 3.2).

A redução da qualidade das sementes de arroz, independentemente do lote e do cultivar, ocorreu conforme a sequência da deterioração proposta por Delouche e Baskin (1973), que afirmaram que as primeiras alterações que ocorrem são as bioquímicas, seguidas do aumento da velocidade de germinação e em uma etapa posterior são observadas aberrações morfológicas até culminar com a morte das sementes. Assim, houve coerência quanto aos incrementos do parâmetro t_{50} como o mais evidente para os períodos propostos e os gases utilizados, uma vez que essa é a etapa inicial da deterioração (Figura 3.5). Também foram observadas diferenças no número de plântulas normais (indicativo de aberrações morfológicas), mas numa intensidade menor do que t_{50} ou área abaixo da curva após 100 horas de hidratação (AUC). Por fim, foi detectado decréscimo da protrusão da raiz primária como um último estágio de deterioração, semelhante ao proposto por Delouche e Baskin, 1973, caracterizando a morte das sementes em função da variação da utilização da pressão dos gases e do período de armazenamento (Figura 3.4). O progresso da deterioração das sementes foi evidenciado quando as sementes foram armazenadas com 13,3% de água.

Com relação aos gases, o resultado relacionado ao aumento da pressão de ar comprimido (APPAR) apresentou pressão parcial de oxigênio de 4,2 MPa, de nitrogênio de 15,6 MPa e de hélio de 1×10^{-4} MPa, logo as diferenças significativas observadas para qualquer parâmetro estudado nessa pesquisa poderiam ser atribuídas a qualquer um desses gases. Entretanto, o aumento da pressão do gás hélio isolado proporcionou a mesma pressão parcial de hélio que no APPAR, porém com pressão de oxigênio de 0,021 MPa e de nitrogênio de 0,078 MPa o que permite eliminar a influência desse gás na qualidade das sementes. Por outro lado, o nitrogênio foi utilizado também com aumento de pressão isolado proporcionando pressão parcial de 15,6 MPa para esse gás, o mesmo observado no APPAR, porém com pressão de oxigênio de 0,021 MPa e de hélio de 5×10^{-7} MPa. Como foram observadas reduções

significativas para o armazenamento das sementes de arroz em alta pressão de nitrogênio é possível afirmar que parte dos efeitos negativos do aumento de pressão de ar atmosférico (APPAR) é devida à presença do nitrogênio. Como os resultados relativos ao aumento de pressão de ar atmosférico (APPAR) foram sempre inferiores aos resultados da utilização do nitrogênio isolado, é possível inferir que a diferença entre os resultados do aumento de pressão de ar comprimido (APPAR), comparado com o uso exclusivo do nitrogênio para o aumento da pressão, são decorrentes da presença do oxigênio contido no interior do tanque de aço.

Resultados de pesquisas anteriores, como as de Groot et al (2012), nas quais o nitrogênio foi utilizado para o controle experimental, indicaram que não foi observada a redução da qualidade das sementes, porém as sementes utilizadas tinham teores de água inferiores aos das sementes de arroz avaliadas nessa pesquisa. Esses mesmos autores observaram que quando apenas o oxigênio é utilizado para o armazenamento de sementes para o aumento da pressão, a redução da germinação das sementes é máxima, quando comparada à utilização de qualquer outra mistura de gases (APPAR e nitrogênio).

Nessa pesquisa, houve evidência de que o aumento da pressão de ar comprimido (APPAR) está relacionado com a redução da qualidade da semente de arroz, sendo que a maior causa dessa redução é atribuída ao oxigênio, por possíveis processos oxidativos, mas parte é atribuída ao nitrogênio.

A explicação para os efeitos do nitrogênio observados está relacionada com a lei de William Henry, proposta em 1802, que considera que a solubilidade de um gás em um líquido depende da pressão do gás, ou seja, quanto maior a pressão exercida pelo gás, maior o número de colisões das moléculas e maior a penetração do gás no líquido. Assim, na medida em que há aumento da pressão do nitrogênio e do oxigênio há o aumento da concentração desses gases nos tecidos das sementes e nessa situação o oxigênio pode ser uma fonte formadora de radicais livres e o nitrogênio, teoricamente, tem efeito neutro. Entretanto, durante a despressurização dos tanques contendo nitrogênio ou APPAR ocorre o efeito, denominado para os seres humanos, de “doença descompressiva”. A rápida despressurização de um gás mantido com aumento de pressão causa a formação de bolhas (da mesma forma que ocorre nos refrigerantes) e o mesmo pode ter ocorrido nas sementes, causando danos celulares irreversíveis. Em função da molécula de nitrogênio ter maior raio atômico que a do oxigênio, a possibilidade de formação de bolhas devido ao nitrogênio é maior. Uma opção para esse tipo de problema é utilizar o Heliox[®], uma mistura de oxigênio e hélio, pois de acordo com os resultados observados quando houve o aumento da pressão do gás hélio não houve efeito causado pela despressurização e, desse modo, a ação do oxigênio evidenciada.

Conforme destacado, há aumento da solubilidade do oxigênio com aumento de pressão sendo que essa molécula pode ser fonte potencial de radicais livres. O oxigênio apesar de ser uma molécula pouco reativa está sujeito a formação de moléculas intermediárias altamente reativas, denominadas espécies reativas de oxigênio (ERO). Essas moléculas são responsáveis pela oxidação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, fatores esses que participam ativamente do processo de deterioração (BAILLY, 2004).

3.5 Conclusão

O aumento do teor de água das sementes causa redução da qualidade das sementes de arroz quando há o aumento da pressão atmosférica. O aumento parcial da pressão atmosférica causa redução da qualidade das sementes de arroz, sendo a redução atribuída na maior parte ao efeito da oxidação proporcionada pelo oxigênio. O aumento parcial da pressão de nitrogênio causa redução da qualidade de sementes de arroz, entretanto não há interferência do aumento da pressão do gás hélio na qualidade das sementes de arroz.

Referências

- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v.14, n. 2, p. 93–107, May 2004.
- BARBOSA, R.M.; COSTA, D.S.; SÁ, M.E. Envelhecimento acelerado de sementes de espécies oleráceas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.41, n.3, p.328-335, Jul. 2011.
- BERNAL-LUGO, I.; LEOPOOLD, A.C. The dynamics of seed mortality. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.49, n.326, p.1455-1461, Sept. 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.
- CROMARTY, A.S.; ELLIS, R.H.; ROBERTS, E.H. **The Design of Seed Storage Facilities for Genetic Conservation**, Rome: IBPGR, 1982, 100p.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zurich. v.1, n.2, p.427-452. Jul. 1973.
- GROOT, S.P.C.; SURKI, A.A.; De VOS, R.C.H.; KODDE, J. Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions. **Annals of Botany**, London, v.10, n. 6, p. 1149-1159, Sept. 2012.
- PADERES, D.E.; MEW, T.W.; ILAG, L.L. Influence of moisture content and length of storage on fungal invasion of paddy rice. **Journal of Biotropia**, Bogor, v. 10, p. 1-13, 1996.

JOOSEN, R.V.L.; KODDE, J.; WILLEMS, L.A.J.; LIGTERINK, W.; van der PLAS, L.H. W.; HILHORST, H.W.M. (2010). GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **The Plant Journal**, Oxford, v.62, n.1, p.148–159, Apr. 2010.

PATIN, A.L.; GUTORMSON, T.J. Evaluating rice (*Oryza sativa* L.) seed vigor. **Seed Technology**, Lincoln, v.27, n.1, p.115-120, Jan. 2005.

PIECHOTA, D. Relative humidity control in cases: buffered silica gel versus saturated salt solutions. **WAAC Newsletter**, Pacific Grove, v.15, n.1, p.19–21, Jan. 1993.

RAJJOU, L.; LOVIGNY, Y.; GROOT, S.P.C.; BELGHAZI, M.; JOB, C.; JOB, D. Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: a comparison between artificial and Natural aging protocols. **Plant Physiology**, Washington, v.148, n.1, p.620-641, Sept. 2008.

TUNES, L.M.; TAVARES, L.C.; BARROS, A.C.S.A. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de arroz. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.35, n.1, p.120-127, Jun. 2012.

4 ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ EM CONDIÇÕES DE HIPOXIA

Resumo

A presença do oxigênio atmosférico pode ser relacionada aos processos deteriorativos das sementes, causados por oxidação. O uso de embalagem com vácuo, para o acondicionamento de sementes, é uma alternativa para conservação de sementes, por proporcionar a remoção do oxigênio do interior das embalagens. O objetivo desse trabalho foi verificar a viabilidade do uso de embalagem com vácuo, para o armazenamento das sementes de arroz, e associar esse ambiente aos efeitos deteriorativos causados pelo oxigênio. Amostras de sementes de arroz, cultivar BRS-Sertaneja, foram armazenadas em embalagem de alumínio, revestida por dupla camada de polietileno, utilizando o vácuo ou apenas a vedação da embalagem. As embalagens foram armazenadas em câmara ultrafria (-20 °C e sem controle de umidade relativa do ar) e em ambiente com temperatura não controlada (média de 24,1°C). As avaliações do parâmetro fisiológico das sementes de arroz possibilitam afirmar que a temperatura de -20 °C favorece a conservação dessas sementes. A embalagem com vácuo, comparada à embalagem selada, favorece o período de conservação das sementes de arroz. Portanto, a utilização da embalagem com vácuo reduz a deterioração das sementes de arroz e é uma alternativa viável para prolongar o período de conservação das sementes.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Oxigênio; Vácuo

Abstract

The presence of atmospheric oxygen can be related with deteriorative processes in seeds caused by oxidation. The use of vacuum packaging, for packaging seeds, is an alternative to seed storage, for providing the removal of the oxygen inside the packaging. The aim of this study was to assess the feasibility of vacuum packaging to use for storage of rice seeds, and associate this environment with deteriorative effects caused by oxygen. Samples of rice seed, BRS-Sertaneja were stored in aluminum packaging, coated by a double layer of polyethylene, using the vacuum sealing of the package or only sealing. The samples were stored in ultracold chamber (-20°C without humidity control of the air) and environment with uncontrolled temperature (average of 24.1°C). Physiological parameter of rice seeds show that the temperature of -20°C favors the conservation of these seeds. The vacuum packaging, packaging compared with sealed packaging, favors the shelf life of rice seed. Therefore, the use of vacuum packaging reduces the deterioration of the rice seeds and is a viable alternative to extend the shelf life of the seeds.

Keywords: *Oryza sativa* L.; Oxygen; Vacuum

4.1 Introdução

O estudo para as condições de armazenamento das sementes é realizado constantemente pelos pesquisadores visando garantir a qualidade das sementes para a semeadura. Harrington (1972) propôs que a manutenção da temperatura baixa reduz a atividade das enzimas envolvidas no processo respiratório e, conseqüentemente, a velocidade de deterioração das sementes ortodoxas durante o armazenamento. Propôs ainda que a cada 5°C de redução da temperatura duplica-se a longevidade de sementes. Nesse sentido diversos estudos envolvendo sementes ortodoxas recomendam o uso das menores temperaturas possíveis associadas às sementes com

teores de água inferiores a 14% como excelente alternativa para aumentar a longevidade das sementes (PANDERES; MEW; ILAG, 1996; KONG et al., 2014; KRÜGER et al., 2014).

As sementes classificadas como ortodoxas têm atividade de água reduzida e é difícil verificar a atividade de enzimas quando os valores de equilíbrio da água das sementes com a umidade relativa do ar são inferiores a 40% (LABUZA, 1971). Nessa situação, o consumo do oxigênio, decorrente da respiração aeróbica é reduzido ou praticamente inexistente sendo que o uso de oxigênio pelas sementes se dá, exclusivamente, pela formação dos radicais livres (GROOT et al., 2015).

Os radicais livres são moléculas instáveis que requerem elétron para tornarem-se estáveis. Como evidenciado pelas informações da literatura, o oxigênio é uma das principais fontes de radical livre por suas diversas formas instáveis, denominadas de espécies reativas de oxigênio - ERO (BAILLY, 2004). Em sementes os radicais livres estão diretamente envolvidos na deterioração durante o armazenamento, bem como em processos intermediários de sinalização de diversos processos fisiológicos (BAILLY; EL-MAAROUF-BOUATEAU; CORBINEAU, 2008). A presença de ERO em uma célula durante o armazenamento desencadeia uma série de reações que culmina na peroxidação de lipídios, principalmente, os associados às membranas, promovendo a redução de ácidos graxos insaturados (ABREU et al., 2013). Além disso, a diminuição da atividade de enzimas relacionadas ao sistema de remoção de radicais livres durante o armazenamento é um indicativo dos processos oxidativo que ocorrem durante o armazenamento das sementes (TIMOTÉO; MARCOS-FILHO, 2013; CARVALHO et al., 2014).

Existe relação direta entre a integridade das membranas e a qualidade das sementes (BARBOSA et al., 2012) e os processos de oxidação podem influenciar na integridade das membranas por atacar ácidos graxos insaturados, culminando na redução da qualidade das sementes. Apesar dessas constatações de efeitos nocivos do oxigênio em células vegetais, principalmente das membranas, parece que ainda faltam estudos sobre o efeito potencial do oxigênio durante o armazenamento de sementes (GROOT et al., 2012).

O armazenamento com vácuo apresenta potencial para a conservação dos atributos de qualidade das sementes (CAMARGO; CARVALHO, 2008). Esse sistema tem apresentado vantagens como a redução do oxigênio no interior da embalagem (reduzindo a ação do oxigênio reativo), da redução das variações de umidade relativa do ar, pois é obrigatório o uso de embalagem impermeável, e da redução da colonização das sementes por microrganismos e insetos. Dessa forma, há a hipótese de que embalagem com vácuo possibilita preservar a qualidade inicial das sementes, mantendo-as com o mínimo de deterioração até a semeadura. O

objetivo desse capítulo foi verificar a viabilidade do uso de embalagem com vácuo para o armazenamento de sementes de arroz e associar aos efeitos deteriorativos causados pelo oxigênio.

4.2 Material e Métodos

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), cultivar BRS-Sertaneja (germinação superior a 80%), foram selecionadas conforme proposto no capítulo 1 (um) dessa tese denominado “Avaliação da qualidade sementes de arroz por meio de análise estatística multivariada”. O critério para a classificação das sementes quanto ao vigor foi baseado nos resultados da análise multivariada, assim, as sementes do lote 1 foram consideradas não vigorosas e as do lote 3 vigorosas. As sementes de arroz de cada lote foram equilibradas a 55% de umidade relativa do ar sob temperatura de 20°C, resultando em sementes com umidade inicial de trabalho de 10,5% (base úmida).

Após essa etapa de preparação as sementes foram armazenadas em embalagem de alumínio revestido por dupla camada de polietileno. Em seguida criaram-se dois ambientes de armazenamento: embalagem com remoção do ar extra do interior (denominado Embalagem com vácuo) e embalagem sem remoção do ar extra (Embalagem selada). O vácuo foi obtido pela utilização de uma máquina industrial, da marca Selovac 300B, regulada com vácuo 1 e solda 2 em função do tipo de embalagem utilizado (Figura 4.1).



Figura 4.1 - A- Máquina Selovac, modelo 300B; B – embalagem vedada com vácuo

Cada embalagem contendo as sementes foi, então, armazenadas em dois ambientes pelo período de 2 anos: câmara ultrafria - CUF (-20°C e sem controle de umidade relativa do ar), da Embrapa Cenargen, em Brasília, DF, e ambiente com temperatura não controlada - ATNC (média de 24,1°C e sem controle de umidade relativa do ar), laboratório do departamento de Produção Vegetal, USP, ESALQ, Piracicaba, SP.

As análises para a caracterização da qualidade das sementes foram realizadas conforme segue:

Grau de umidade: realizado conforme indicado nas Regras para Análise de Sementes, (BRASIL, 2009); duas amostras de sementes de, aproximadamente, $4,5 \pm 0,5$ g cada foram pesadas e colocadas em recipientes abertos de alumínio. O conjunto recipiente + sementes foi mantido em estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. No final desse período os recipientes foram tampados e mantidos em dessecador contendo sílica gel seca. Após 30 minutos o conjunto recipiente + sementes foi pesado e calculado o grau de umidade (base úmida). O resultado foi expresso em porcentagem de água.

Germinação: realizada com quatro repetições de 50 sementes cada. Para cada repetição foram utilizadas três folhas de papel, do tipo Germitest[®], umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As sementes foram distribuídas inicialmente sobre duas folhas e, em seguida, cobertas pela terceira folha que, então, foram enroladas para formar os rolos, conforme proposto nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O conjunto de rolos foi mantido em germinador, do tipo Mangelsdorf, em temperatura constante de 25°C por 14 dias. O resultado foi calculado considerando a quantidade de plântulas normais e expresso em porcentagem. Uma avaliação adicional foi realizada no quinto dia e denominada primeira contagem de germinação.

Teste de frio: realizado com quatro repetições de 50 sementes distribuídas em papel, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos, vedados com fita adesiva e mantidos em câmara regulada a 10°C, durante sete dias. Após este período, os rolos foram transferidos para um germinador, do tipo Mangelsdorf, à temperatura de 25°C, onde permaneceram por mais sete dias (PATIN; GUTORMSON, 2005). O resultado foi calculado considerando a quantidade de plântulas normais e expresso em porcentagem.

Envelhecimento acelerado: realizado com 220 sementes, distribuídas em uma camada uniforme sobre telas de aço inoxidável, colocadas no interior de caixas plásticas (11 cm × 11

cm ×3 cm), em cujo fundo são colocados 40 mL de água. As caixas plásticas foram então tampadas e mantidas por 96 horas a 42°C (PATIN; GUTORMSON, 2005). Após esse período foi instalado o teste de germinação conforme descrito anteriormente. A avaliação foi efetuada aos cinco dias de acordo com as instruções propostas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O resultado foi calculado considerando a quantidade de plântulas normais e expresso em porcentagem.

Emergência da plântula em casa de vegetação: quatro repetições de 50 sementes da foram semeadas a 3 cm de profundidade em substrato de areia, umedecida com água, cuja quantidade foi calculada com base em 60% da capacidade de retenção de água pela areia. As avaliações foram diárias, até o décimo dia, e com os dados foram calculados o índice de velocidade de emergência da plântula, conforme proposto por Maguire (1962), e o total de plântula emersa, registrado no décimo quarto dia, o qual foi expresso em porcentagem.

Emergência da plântula em campo: quatro repetições de 100 sementes cada foram semeadas a três centímetros de profundidade em um Nitossolo Vermelho Eutrófico, Embrapa (2006). A irrigação foi efetuada após a semeadura e a cada dois dias, até o décimo quarto dia. O total de plântulas emersas, registrado no décimo quarto dia, foi expresso em porcentagem.

As análises estatísticas foram realizadas por meio de análises de variância com o cálculo do valor de F e comparação com o valor de F-crítico. Quando F-calculado foi maior que o F-crítico realizou-se a comparação de médias pelo teste de Tukey. Como probabilidade aceitável para os resultados de análise de variância adotou-se o nível de 5%.

4.3 Resultados

As sementes de arroz apresentaram, no momento de abertura das embalagens, teores de água semelhantes ao proposto inicialmente (10,5% de água). Esses resultados indicam que não houve interferência do teor de água nos resultados das demais avaliações efetuadas com essas sementes.

Os valores calculados para F da análise de variância foram obtidos pela divisão do quadrado médio do parâmetro pelo respectivo quadrado médio do resíduo. Desse modo observou-se valores significativos de F (f calculado maior que o F crítico) para todos os parâmetros estudados tanto para o lote 1 (Tabela 4.1) bem como para o lote 2 (Tabela 4.2). Os valores de coeficiente de variação foram maiores para as sementes não vigorosas (Lote 1) do que para as sementes vigorosas (Lote 3).

Tabela 4.1 - Quadrados médios referentes aos resultados das análises de variância para os resultados de germinação (QM_g), primeira contagem do teste de germinação (QM_{pcg}), envelhecimento acelerado (QM_{ea}), teste de frio (QM_{tf}), emergência da plântula (QM_{em}) e índice de velocidade de germinação (QM_{ivg}), desementes de arroz, cultivar BRS-Sertaneja representadas pelo lote 1

F.V.	G.L.	QM_g	QM_{pcg}	QM_{ea}	QM_{tf}	QM_{em}	QM_{ivg}
Atm	1	225,0*	600,2**	210,2 ^{n.s.}	110,2 ^{n.s.}	0,2 ^{n.s.}	0,2 ^{n.s.}
Amb	1	196,0*	506,2**	650,2**	132,2 ^{n.s.}	1190,2**	16,0**
Atm*Amb	1	64,0 ^{n.s.}	342,2*	6,2 ^{n.s.}	600,2**	6,2 ^{n.s.}	0,2 ^{n.s.}
Resíduo	12	26,8	37,4	69,8	35,4	40,6	0,4
F-crítico	-	4,75	4,75	4,75	4,75	4,75	4,75
Média Geral	-	87%	78%	61%	72%	84%	7,75
C.V.(%)	-	6,0	7,8	13,7	8,3	7,6	7,9

F.V.: fator de variação; G.L.: Grau (s) de liberdade; Atm.: atmosfera de armazenamento (Embalagem com vácuo ou Embalagem selada); Amb.: ambiente de armazenamento (Câmara ultrafria ou ambiente com temperatura não controlada); C.V.: coeficiente de variação

Tabela 4.2 - Quadrados médios referentes ao resultado da análise de variância para germinação (QM_g), primeira contagem do teste de germinação (QM_{pcg}), envelhecimento acelerado (QM_{ea}), teste de frio (QM_{tf}), emergência de plântula (QM_{em}) e índice de velocidade de germinação (QM_{ivg}) de sementes de arroz, cultivar BRS-Sertaneja, representadas pelo lote 3

F.V.	G.L.	QM_g	QM_{pcg}	QM_{ea}	QM_{tf}	QM_{em}	QM_{ivg}
Atm	1	132,2*	64,0*	49,0 ^{n.s.}	196,0 ^{n.s.}	1,0 ^{n.s.}	0,1 ^{n.s.}
Amb	1	210,2**	36,0 ^{n.s.}	729,0**	100,0 ^{n.s.}	225,0**	7,6**
Atm*Amb	1	0,2 ^{n.s.}	25,0 ^{n.s.}	9,0 ^{n.s.}	1,0 ^{n.s.}	9,0 ^{n.s.}	0,1 ^{n.s.}
Resíduo	12	14,6	12,8	61,7	47,2	20,3	0,2
F-crítico	-	4,75	4,75	4,75	4,75	4,75	4,75
Média Geral	-	85%	91%	74%	85%	90%	8,2
C.V.(%)	-	4,5	3,9	10,6	8,1	5,0	5,8

F.V.: fator de variação; G.L.: Grau (s) de liberdade; Atm.: atmosfera de armazenamento (Embalagem com vácuo ou Embalagem selada); Amb.: ambiente de armazenamento (Câmara ultrafria ou ambiente com temperatura não controlada); C.V.: coeficiente de variação

Para as sementes do lote 1 (sementes não vigorosas) houve influência do ambiente de armazenamento em função dos resultados dos testes de germinação, envelhecimento acelerado, de emergência da plântula e do índice de velocidade de germinação. O armazenamento das

sementes em ambiente com a menor temperatura, câmara ultrafria – CUF, (-20°C), favoreceu a manutenção da qualidade das sementes (Figura 4.2 A). Com relação ao tipo de embalagem, os resultados das sementes armazenadas na ausência de oxigênio (com vácuo) foram superiores em relação à quantidade de plântulas normais, tanto no teste de germinação como no teste de germinação após o teste de envelhecimento acelerado, quando comparados aos resultados das sementes armazenadas em embalagem selada (Figura 4.2 B).

Casos de interação foram observados para os resultados das avaliações da primeira contagem do teste de germinação (Figura 4.2 C) e para os resultados do teste de frio (Figura 4.2 D). Para a primeira contagem do teste de germinação, realizada aos cinco dias após o início do teste (Brasil, 2009), houve o decréscimo do número de plântulas normais para as sementes na embalagem selada armazenadas em ambiente não controlado. No caso do resultado do teste de frio o destaque positivo foi para o número de plântulas normais, para as sementes embaladas com vácuo e armazenadas em condição de ambiente com temperatura não controlada. Desse modo, para as sementes do lote 1 (sementes não vigorosas) os resultados indicaram que há efeito positivo do uso da embalagem com vácuo para a conservação das sementes de arroz.

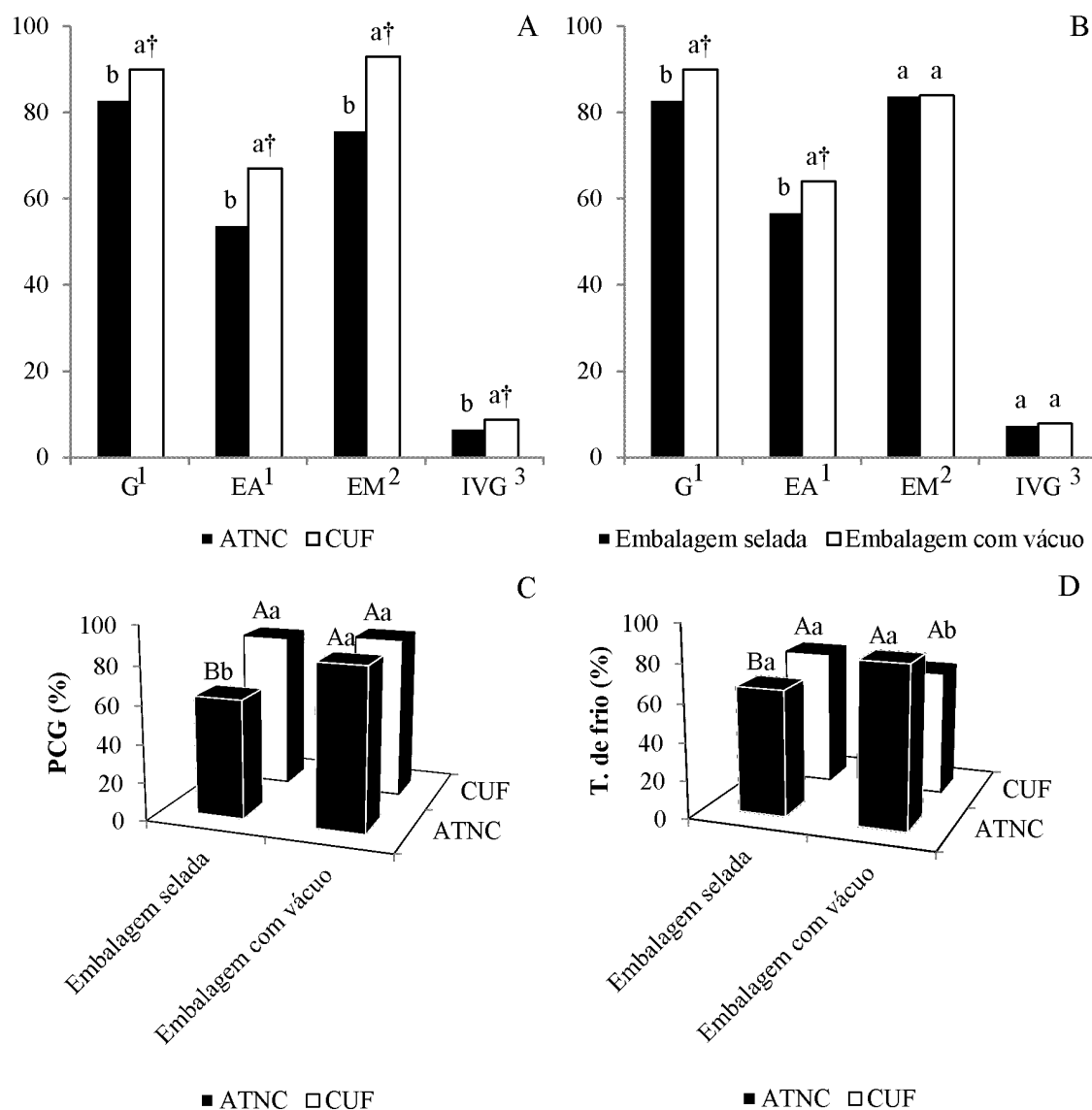


Figura 4.2 – Sementes de arroz BRS-Sertaneja, Lote 1 (sementes não vigorosas). A – Comparações entre ambientes de armazenamento; B – comparações entre atmosfera de armazenamento (ATNC – ambiente com temperatura não controlada e CUF – Câmara ultrafria); C – desdobramento de primeira contagem do teste de germinação (PCG) para ambiente e atmosfera; D – desdobramento de teste de frio (TF) para ambiente e atmosfera. G¹ – Resultado do teste de germinação expresso em porcentagem de plântulas normais, EA¹ - Resultado do teste de envelhecimento acelerado expresso em porcentagem de plântulas normais, EM² - Resultado de emergência da plântula expresso em porcentagem de plântulas emersas e IVG³ – índice de velocidade de germinação. Letras minúsculas diferentes (Figuras 4.2 A e 4.2 B) são significativas a 5%. Letras diferentes maiúsculas no eixo x e minúsculas no eixo z (Figuras 4.2 C e 4.2 D) são significativas a 5%

Para as sementes do lote 3 (sementes vigorosas) não foram observados efeitos da interação entre os tratamentos propostos. Com relação ao ambiente de armazenamento foi observado que a temperatura de -20°C favoreceu a quantidade das plântulas normais obtidas na

primeira contagem do teste de germinação, no teste de envelhecimento acelerado e a quantidade de plântulas emersas, além do valor superior do índice de velocidade de germinação (Figura 4.3 A). Os resultados relacionados ao tipo de embalagem foram significativos para o uso da embalagem com vácuo, em função do incremento do número de plântulas normais aos cinco dias, referentes à primeira contagem do teste de germinação, e aos 14 dias, momento da avaliação final do teste de germinação (Figura 4.3 B).

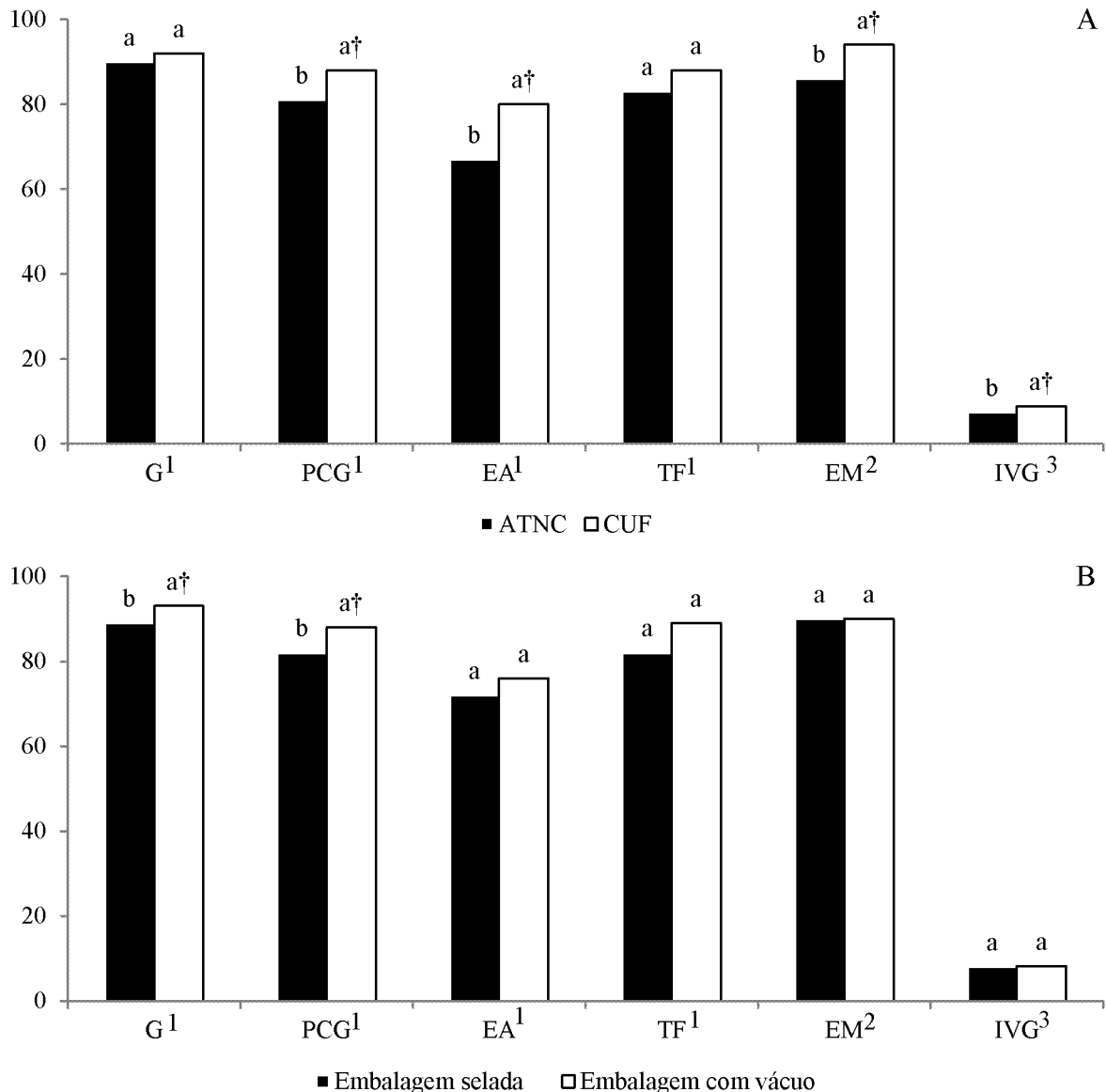


Figura 4.3 – Sementes de arroz BRS-Sertaneja, Lote 3 (sementes vigorosas). A – Comparações entre ambientes de armazenamento (ATNC – ambiente com temperatura não controlada; CUF – Câmara ultrafria); B – comparações entre atmosfera de armazenamento. G¹ – Resultado do teste de germinação expresso em porcentagem de plântulas normais, PCG¹ - Porcentagem de plântulas normais na data da primeira contagem, EA¹ - Resultado do teste de envelhecimento acelerado expresso em porcentagem de plântulas normais, TF¹ - Resultado do teste de frio expresso em porcentagem de plântulas normais, EM² - Resultado

de emergência da plântula expresso em porcentagem de plântulas emersas e IVG^3 – índice de velocidade de germinação. Letras minúsculas diferentes (Figuras 4.3 A e 4.3 B) são significativas a 5%. Letras diferentes maiúsculas no plano x e minúsculas no plano z (Figuras 4.3 C e 4.3 D) são significativas a 5%.

4.4 Discussão

O oxigênio é objeto de diversos estudos para verificar como interfere na conservação de sementes (GROOT et al., 2012; GROOT et al., 2015). Em ambiente que tem concentração normal dessa molécula ou em ambiente com aumento de pressão (18 MPa) há indicações de efeitos negativos do oxigênio, para a conservação de sementes durante o armazenamento, conforme proposto por esses mesmos autores.

Estudos que envolvem a ausência de oxigênio requerem certos cuidados, o primeiro está relacionado ao teor de água das sementes, que deve ser mantido em níveis reduzidos de modo que tenham atividade metabólica quase nula, pois o aumento da água das sementes ativa o metabolismo e se houver a remoção do oxigênio de uma semente nesse estado de energia haverá a indução à geração de energia e à renovação de NAD^+ , por meio de respiração anaeróbica, cujo produto final será o álcool e alguns acetaldeídos tóxicos para as células (KODDE et al., 2012). Assim, os 10,5% de água das sementes de arroz utilizadas nessa pesquisa foram adequados para manter o nível metabólico reduzido e evitar o processo de fermentação das sementes.

Outro fator associado ao metabolismo da semente é o controle da temperatura, a redução da temperatura reduz a atividade de enzimas e evita a deterioração. Essa condição de temperatura como sendo favorável foi confirmada nos resultados obtidos a partir das sementes armazenadas em câmara com temperatura de $-20^{\circ}C$, (câmara ultrafria) cujos resultados dos testes de germinação, de envelhecimento acelerado, de emergência da plântula e do índice de velocidade de emergência da plântula superaram os das sementes armazenadas em ambiente com temperatura não controlada (Figura 4.2 A). Na câmara ultrafria é possível a conservação de sementes por períodos longos como já verificado, por exemplo, para as sementes de arroz por Hay et al. (2013). Van Treuren; de Groot e van Hintum (2013) indicaram que condições de armazenamento similares às utilizadas nessa pesquisa favoreceram a conservação das sementes de diversas espécies, por mais de 25 anos, sem necessidade de renovação do banco de germoplasma.

Os resultados dessa pesquisa indicaram também que a embalagem com vácuo tem potencial para conservar as sementes de arroz por mais tempo, uma vez que a avaliação foi realizada após dois anos de armazenamento (Figuras 4.2 B e 4.2 C). A remoção do oxigênio em

sementes com teor de água reduzido tem sido considerada benéfica para a qualidade das sementes, como afirmaram Groot et al. (2015) para sementes armazenadas a 35°C e associadas com Drying Beads® (partículas secadoras associadas com absorvedores de oxigênio) cuja germinação foi superior à germinação das sementes armazenadas em condições similares, mas na presença de oxigênio. Nesse caso, esse tipo de armazenamento pode ser comparado ao armazenamento em embalagem com vácuo, uma vez que nessa condição a concentração do oxigênio é mínima também.

Há evidência do efeito negativo do oxigênio em sementes não dormentes. Resultados de pesquisa indicam que o oxigênio é um dos principais responsáveis pela redução da concentração de compostos fenólicos nas sementes (GROOT et al., 2012). Os compostos fenólicos, tal como a vitamina E, são doadores de elétrons para ERO e atuam como mecanismo protetor de fontes oxidativas (LI; KEASLING; NIYOGI, 2012).

Também, o uso de embalagem com vácuo é associado à manutenção da quantidade de ácidos graxos insaturados, quando comparada à embalagem de papel (LINS et al., 2014). Na condição em que a concentração de oxigênio é menor, a peroxidação dos lipídios ocorre com menor velocidade, uma vez que esse processo é conhecido por ocorrer em cadeia, ou seja, se iniciado tende a tornar-se mais intenso e mais rápido. Em outras palavras, o uso do vácuo retarda a peroxidação de lipídeos por retardar o início do processo.

4.5 Conclusão

A utilização da embalagem com vácuo reduz a deterioração das sementes de arroz e é uma alternativa viável para prolongar o período de conservação das sementes.

Referências

ABREU, L.A. de S.; CARVALHO, M.L.M.; PINTO, C.A.G.; KATAOKA, V.Y.; SILVA, T.T. de A. Deterioration of sunflower seeds during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.35, n. 2, p.240-247, Apr. 2013.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v.14, n. 2, p. 93–107, May 2004.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signalling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, n.10, p.806–14, Oct. 2008.

BARBOSA, R.M.; LEÃO, E.F.; CAPRIO, C.H.; VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica em maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n.2, p.646-651, jun. 2012.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.
- CAMARGO, R.; CARVALHO, M.L.M. Armazenamento a vácuo de semente de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n.1, p. 131-139, Jan. 2008.
- CARVALHO, E.R.; MAVAIÉIE, D.P. da R.; OLIVEIRA, J.A.; CARVALHO, M.V.; VIEIRA, A. R. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n.12, p.967-976, Dez.2014.
- GROOT, S.P.C.; GROOT, L.; Kodde, J.; van TREURENA, R. Prolonging the longevity of ex situ conserved seeds by storage under anoxia. **Plant Genetic Resources**, Cambridge, v.13, n.1, p. 18-26, Apr. 2015.
- GROOT, S.P.C.; SURKI, A.A.; De VOS, R.C.H.; KODDE, J. Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions. **Annals of Botany**, London, v.10, n. 6, p. 1149-1159, Sept. 2012.
- HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 3, p. 145-245.
- HAY, F.R.; GUZMAN, F.; ELLIS, D.; MAKABIYA, H.; BORROMEO, T.; HAMILTON, N. R. S. Viability of *Oryza sativa* L. seeds stored under genebank conditions for up to 30 years. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.60, n.1, p. 275-296, Jan. 2013.
- KODDE, J.; BUCKLEY, W.T.; GROOT, C.C.; RETIERE, M.; ZAMORA, A.M.V. Groot, S.P.C. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. **Seed Science Research**, Wallingford, v.22, n.1, p. 55-62, Mar. 2012.
- KONG, Q.; MAO, P.S.; YU, X.D.; XIA, F.S. Physiological changes in oat seeds aged at different moisture contents. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.42, n.2, p.190-201, Apr. 2014.
- LABUZA T.P. Kinetics of lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Technology**, Amherst, v. 2, n. 3, p. 355-405, Oct. 1971.
- LI, Z.; KEASLING, J.D.; NIYOGI, K.K. Overlapping photoprotective function of vitamin E and carotenoids in *Chlamydomonas*. **Plant Physiology**, Washington, v.158, n.1, p. 313-323, Jan. 2012.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in relation evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar. 1962.
- PADERES, D.E.; MEW, T.W.; ILAG, L.L. Influence of moisture content and length of storage on fungal invasion of paddy rice. **Journal of Biotropia**, Bogor, v. 10, p. 1-13, 1996.
- PATIN, A.L.; GUTORMSON, T.J. Evaluating rice (*Oryza sativa* L.) seed vigor. **Seed Technology**, Lincoln, v. 27, n.1, p.115-120, Jan. 2005.

SATTLER, S.E.; GILLILAND, L.U.; MAGALLANES-LUNDBACK, M.; POLLARD, M.; DELLAPENNA, D. Vitamin E Is Essential for Seed Longevity and for Preventing Lipid Peroxidation during Germination. **The Plant Cell**, Rockville, v.16, n.6, p.1419-1432, Jun. 2004.

TIMÓTEO, T.S.; MARCOS-FILHO, J. Seed performance of different corn genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p.207-215, Fev.2013

van TREUREN, R.; GROOT, E.C.; van HINTUM, T.J.L. Preservation of seed viability during 25 years of storage under standard genebank conditions. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.60, n.4, p. 1407-1421, Apr. 2013.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade de sementes é um parâmetro fundamental para a cadeia produtiva agrícola do país. Identificar sementes com qualidade diferenciada é o primeiro passo no que se refere ao conhecimento inicial do material vegetal que será utilizado para a multiplicação de qualquer espécie. Ainda não há consenso sobre qual é o melhor teste para estimar o vigor das sementes e o conjunto das informações, obtido com os resultados desses testes, é que possibilita classificar as sementes de diferentes lotes quanto à qualidade. A proposta de criar um índice de vigor, baseado em um método estatístico multivariado, conforme consta do capítulo 2, foi adequada e possibilitou identificar as sementes com qualidade potencialmente superior, com base no atributo fisiológico, mesmo quando a estatística univariada não mostrou. Esse método requer conhecimento matemático para os cálculos, mas quando os dados são colocados na forma de gráfico, tipo “biplot”, há facilidade e rapidez para avaliar e interpretar os resultados, o que possibilitará para o pesquisador utilizar esse método como uma nova forma para classificar as sementes quanto à qualidade.

A determinação da qualidade de sementes favorece as decisões quanto ao uso das sementes. No caso de possibilidade de semeadura ou armazenamento e necessidade de escolha de lotes para semear é comum armazenar as sementes que têm qualidade superior para utilização em um posterior momento, pois tendem a manter a qualidade em relação às sementes que têm qualidade inferior.

O armazenamento de sementes é fundamental para a conservação da qualidade das sementes. A temperatura e a umidade relativa do ar têm influência na deterioração das sementes, por interferirem diretamente nos processos metabólicos. O oxigênio, molécula fundamental para as espécies aeróbicas, também influencia a qualidade das sementes, conforme verificado nos resultados dessa pesquisa (capítulo 3), reduzindo a qualidade das sementes de arroz. Essa redução está relacionada aos efeitos oxidativos das moléculas de oxigênio, que podem formar radicais livres e alterar as estruturas celulares das sementes, prejudicando o processo de germinação. No capítulo 4, complementar ao anterior, foi avaliada a ausência do oxigênio para o armazenamento das sementes de arroz. Nesse caso, foi possível verificar que o método com aplicação de vácuo beneficiou a qualidade dessas sementes.

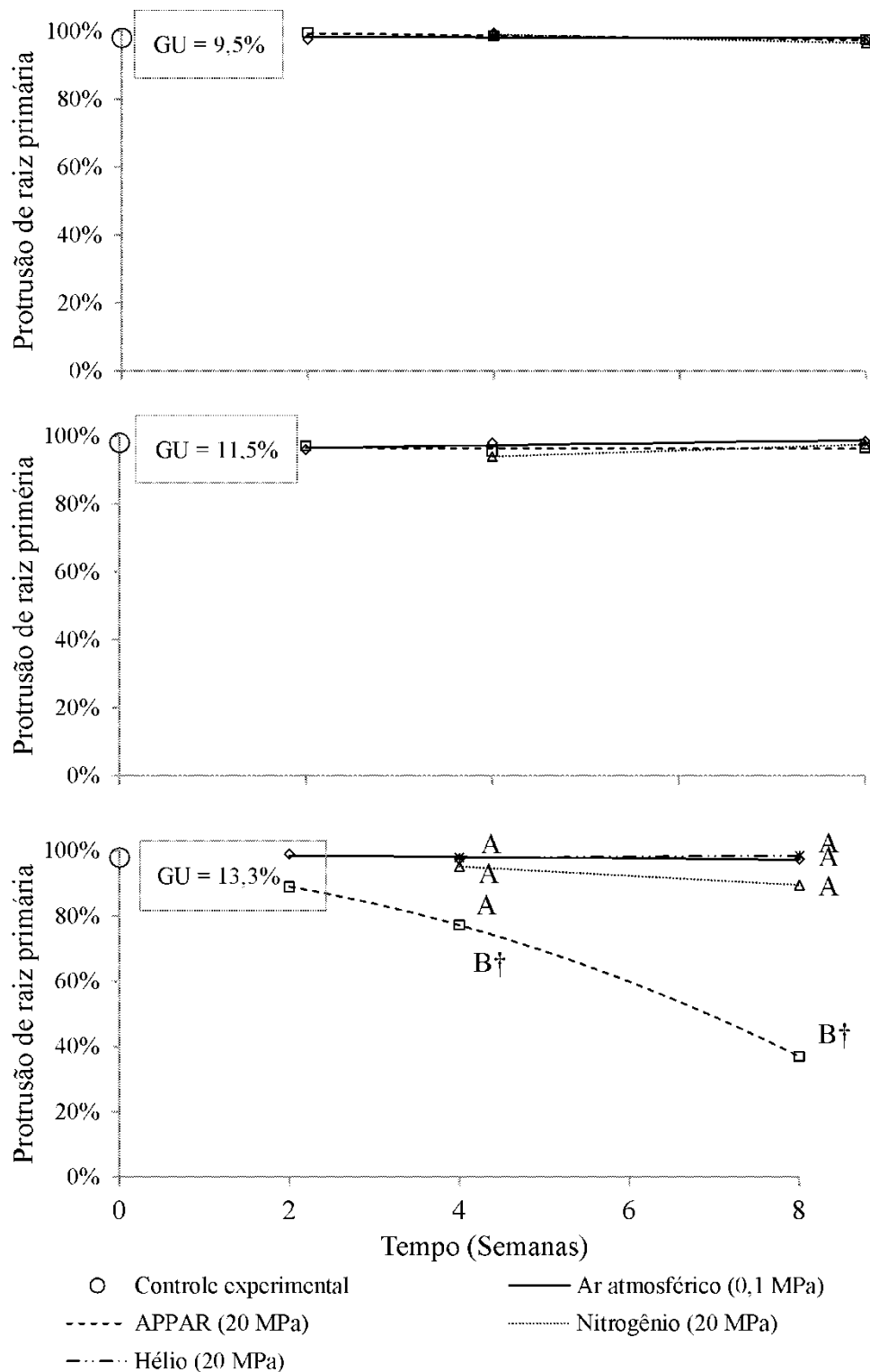
Portanto, o oxigênio atua de duas formas fundamentais no tecido vegetal, como fonte de energia para a manutenção da vida ou como elemento com potencial para causar deterioração por meio de processos oxidativos.

Embora atualmente não haja ainda técnicas que possibilitem retirar o oxigênio das embalagens de armazenamento de sementes em escala comercial, especialmente para as

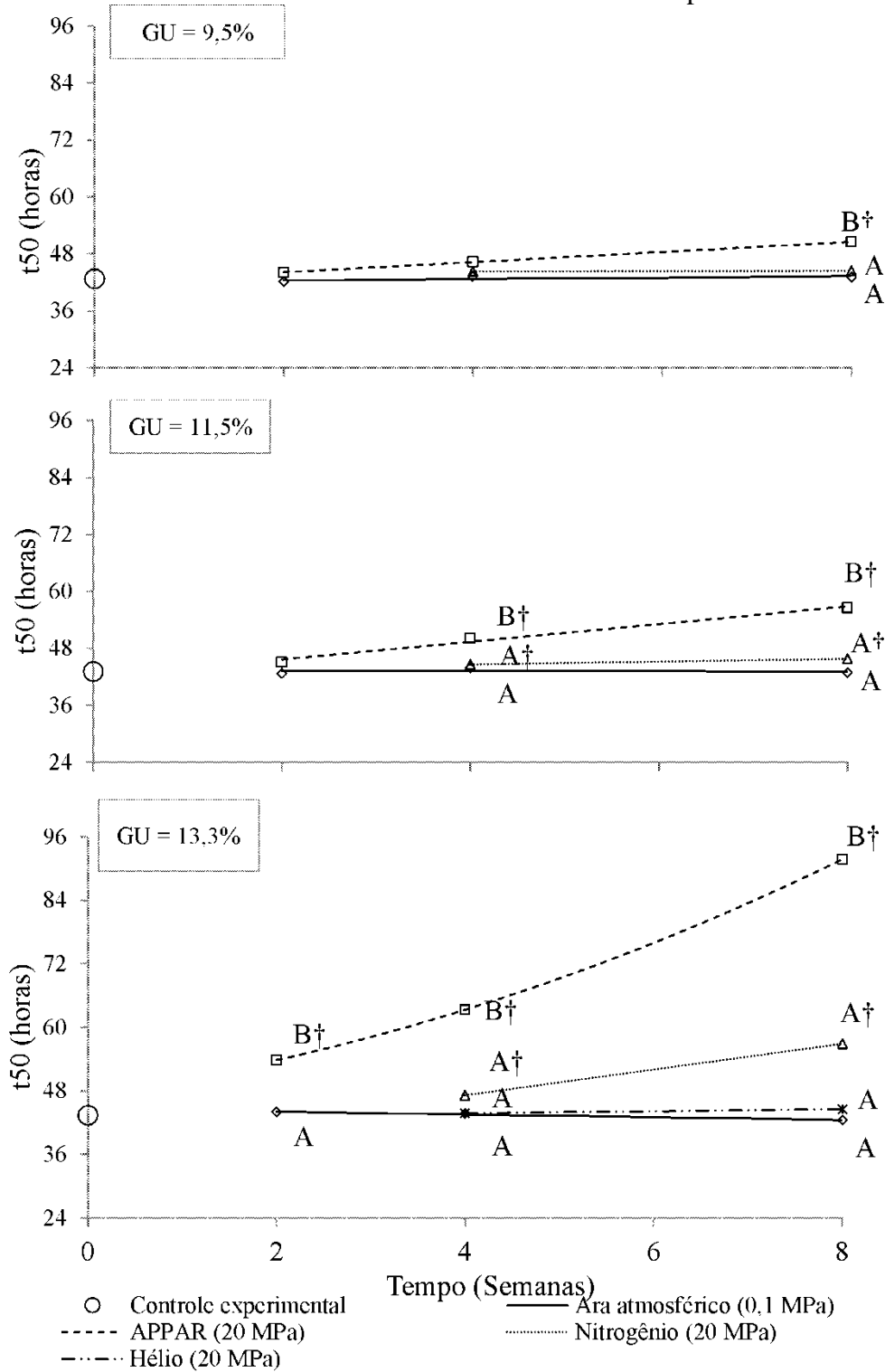
sementes de grandes culturas, os resultados dessa pesquisa pode ser aplicados imediatamente para serem utilizados em sementes armazenadas em bancos de germoplasma, uma vez que são guardadas quantidades reduzidas de sementes, mas número considerável de acessos genéticos, pelo máximo período de tempo, em função do alto custo do processo de renovação dessas sementes.

APÊNDICES

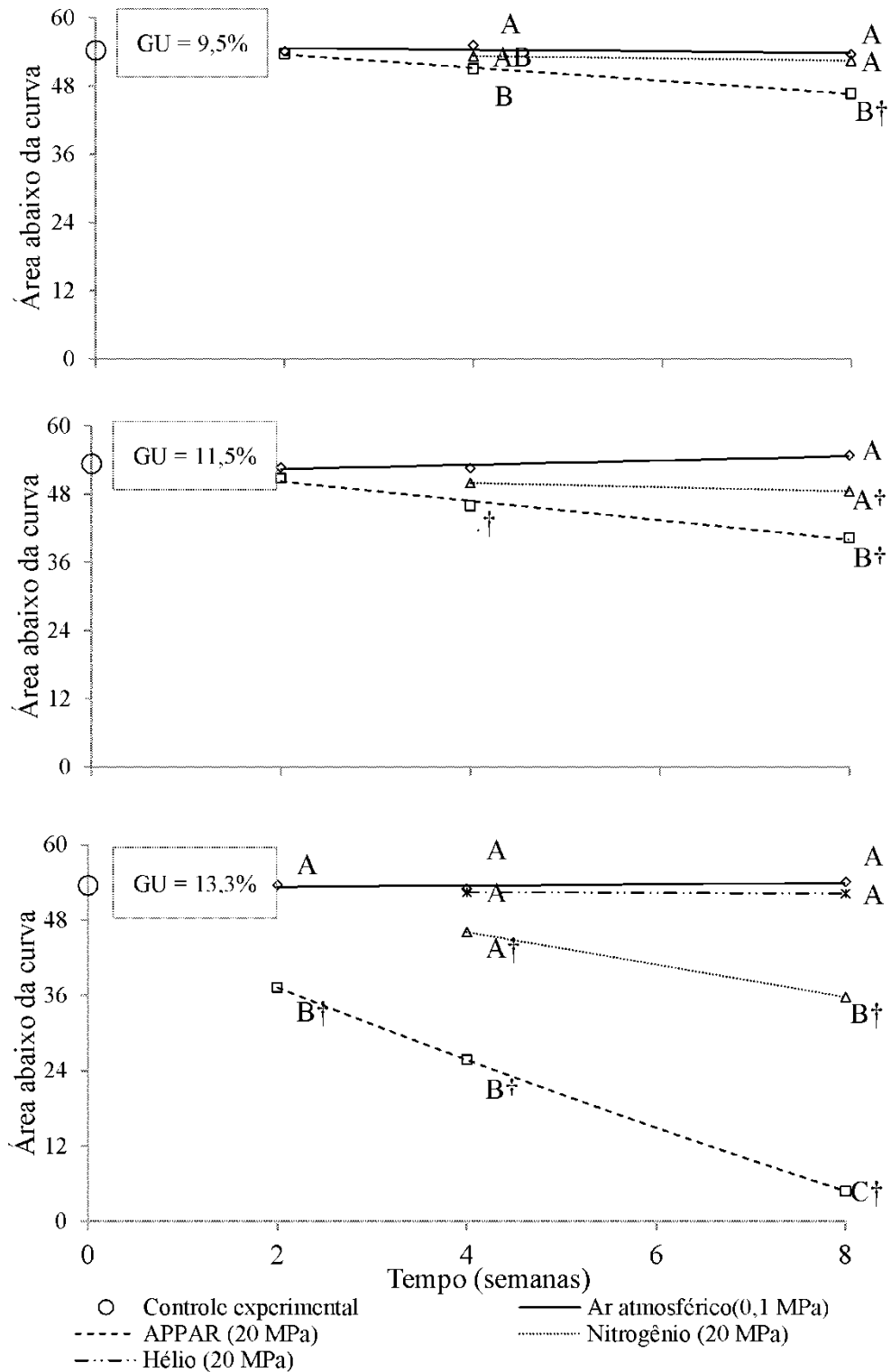
APÊNDICE A – Protrusão de raiz primária de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L002, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes umidades relativas de equilíbrio. Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados em alta pressão. † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental



APÊNDICE B – Velocidade de germinação (t50) de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L002, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes umidades relativas de equilíbrio. Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados em alta pressão. † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental



APÊNDICE C – Área abaixo da curva de germinação de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L002, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes umidades relativas de equilíbrio. Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados em alta pressão. † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental



APÊNDICE D – Germinação de sementes de arroz, cultivar EPAGRI-109, lote L002, em diferentes períodos de armazenamento com diferentes gases e em diferentes umidades relativas de equilíbrio. Para cada semana letras maiúsculas diferentes significam distinções entre os gases utilizados em alta pressão. † Sinal de cruz quando presente significa diferenças (teste t) individuais entre cada tratamento e o controle experimental

