

**FRANCISCO ANTONIO MARÇALLO**

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE MILHO EM ATMOSFERA  
MODIFICADA COM DIÓXIDO DE CARBONO**

**CURITIBA  
2006**

**FRANCISCO ANTONIO MARÇALLO**

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE MILHO EM ATMOSFERA  
MODIFICADA COM DIÓXIDO DE CARBONO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Edilberto Possamai

**CURITIBA  
2006**

Às pessoas que dedicaram  
suas vidas a mim: meu pai,  
minha vó e minhas tias, a  
essas grandes pessoas,  
aonde sejam que seus  
espíritos estejam.

Com saudades, ofereço  
parte da minha vida.

Às minhas filhinhas Nicole e  
Antonela,

À minha esposa e psicóloga  
particular Marcela,

À minha mãe Wendy,

Com carinho dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu amigo e Orientador, Professor Edilberto Possamai, pelo conhecimento transmitido e amizade sincera.

À Doutora Adriana Martinelli Seneme, pela Co-Orientação, incentivo e auxílio na condução dos trabalhos.

Ao Doutor Edilson Batista de Oliveira pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Secretaria de Agricultura de Castro pelo fornecimento das sementes.

À empresa White Martins S.A. pelo empréstimo de equipamentos.

Aos professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio e confiança.

A todos meus colegas da Pós-Graduação, que juntos buscamos o mesmo objetivo.

Um carinho especial à amiga e colega de Curso e de Docência, a exemplar Márcia Bello.

Aos meus alunos de Graduação, razão deste trabalho.

A todos meus familiares, pela paciência incondicional.

Ao amor da minha vida, minha esposa, Marcela M. Marçallo, por ter feito tudo o que fez.

Ao amor das nossas vidas, nosso criador, Deus, por tudo.

## **EPIGRAFE**

“Em relação a todos os atos de iniciativa e de criação, existe uma verdade fundamental cujo desconhecimento mata inúmeras idéias e planos esplêndidos: a de que no momento em que nos comprometemos definitivamente, a providência move-se também. Toda uma corrente de acontecimentos brota da decisão, fazendo surgir a nosso favor toda sorte de incidentes e encontros e assistência material que ninguém sonharia que viesse em sua direção. Coragem contém genialidade, poder e magia”.

(Adaptado de Goethe)

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Francisco Antonio Marçallo, filho de Francisco Antonio Marçallo e Wendy Marçallo, é natural de Curitiba, Estado do Paraná, nasceu em 29 de janeiro de 1963. É casado com Marcela Marçallo e pai de duas filhas, Nicole Marçallo e Antonela Marçallo.

Cursou o ensino fundamental e médio em Curitiba (PR) e em 1999 recebeu o grau de Engenheiro Agrônomo, conferido pela Universidad Agrária del Ecuador, em Milagro, Província del Guayas, Equador. Em 2002 obteve o grau de Mestre pela Universidade Federal do Paraná, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, na Área de Concentração Produção Vegetal, com a Dissertação: “Sobre-semeadura de forrageiras hibernais em pastagem degradada de pensacola com doses de glifosato”.

Entre 1992 e 1999 trabalhou com produção de plantas ornamentais e elaboração de projetos paisagísticos no Equador. Entre 1992 e 1994 trabalhou com produção animal, frango de corte, em Milagro, Equador. Em 2005 ingressou na Universidade Federal do Paraná como Professor Substituto em Horticultura.

Em março de 2003 iniciou o Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Linha de Pesquisa Autoecologia e Produção Sustentável, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, na Universidade Federal do Paraná.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	x
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO MILHO.....	3
2.2 A SEMENTE.....	5
2.2.1 Morfologia da semente e conceito funcional.....	5
2.2.1.1 Poder germinativo das sementes.....	8
2.2.1.2 Vigor das sementes.....	8
2.2.1.3 Estádio R <sub>6</sub> – maturidade fisiológica (milho).....	9
2.3 GERMINAÇÃO.....	10
2.3.1 Embebição.....	11
2.3.1.1 Etapas do processo de absorção de água.....	11
2.3.2 Fatores que afetam a germinação.....	13
2.3.2.1 Fatores endógenos.....	14
2.3.2.2 Fatores exógenos.....	14
2.4 RESPIRAÇÃO.....	15
2.4.1 Mecanismos respiratórios da semente.....	16
2.4.2 Fatores que afetam a respiração da semente.....	18
2.5 DETERIORAÇÃO DE SEMENTES.....	19
2.6 QUALIDADE FISIOLÓGICA DA SEMENTE.....	20
2.6.1 Vigor da semente.....	21
2.6.2 Fatores que afetam a qualidade fisiológica da semente.....	23
2.7 ARMAZENAMENTO.....	23
2.7.1 Embalagens.....	25
2.7.1.1 Embalagens plásticas impermeáveis na fisiologia do grão ou semente.....	26
2.7.2 Proteção das sementes contra o ataque de pragas.....	28

2.8 EXPURGO.....	29
2.8.1 Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ).....	30
2.8.1.1 Processo de geração de CO <sub>2</sub> .....	31
2.8.1.2 Propriedades do dióxido de carbono.....	31
2.8.2 Atmosfera controlada na estocagem (CAP).....	32
2.8.3 Atmosfera modificada para embalagens (MAP).....	32
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>34</b>
3.1 LOCAL DOS TRABALHOS EXPERIMENTAIS.....	34
3.2 ESPÉCIE ESTUDADA.....	34
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	34
3.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	35
3.4.1 Avaliação.....	38
3.4.1.1 Germinação.....	38
3.4.1.2 Vigor.....	39
3.4.1.2.1 Teste de tetrazólio.....	30
3.4.1.2.2 Índice de velocidade de emergência (IVE).....	40
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
4.1 Teor de umidade e peso de mil sementes.....	42
4.2 GERMINAÇÃO.....	42
4.3 VIGOR.....	50
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>59</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>68</b>



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Equipamento marca SELOVAC 200 B, que retira o ar, injeta dióxido de carbono e sela as embalagens, Curitiba – PR, 2004.....	37
FIGURA 2 – Aparelho analisador atmosférico utilizado para mensurar a concentração de oxigênio e dióxido de carbono no interior das embalagens, Curitiba – PR, 2004.....	38
FIGURA 3 – Determinação do índice de velocidade de emergência, Curitiba – PR, 2004.....	41
FIGURA 4 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação nas concentrações de CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	43
FIGURA 5 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio nas concentrações de CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	43
FIGURA 6 – Porcentagem de germinação obtida, por meio do teste de germinação, para as diferentes concentrações de CO <sub>2</sub> e períodos de exposição ao gás. Curitiba – PR, 2004.....	44
FIGURA 7 – Porcentagem do potencial de germinação obtida, por meio do teste de tetrazólio, para as diferentes concentrações de CO <sub>2</sub> e exposições ao gás. Curitiba – PR, 2004.....	45
FIGURA 8 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação nos diferentes períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	46
FIGURA 9 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz) nos diferentes períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	47
FIGURA 10 - Porcentagem de germinação obtida, por meio do teste de germinação, para os diferentes períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.....	48
FIGURA 11 - Porcentagem do potencial de germinação obtida, por meio do teste de tetrazólio, para os diferentes períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.....	49
FIGURA 12 - Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio nas concentrações de CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	50

FIGURA 13 - Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência (IVE), para as concentrações de CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	51
FIGURA 14 - Porcentagem de vigor obtida, por meio do teste de tetrazólio, para as diferentes concentrações de CO <sub>2</sub> e exposições ao gás. Curitiba – PR, 2004.....	52
FIGURA 15 - Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência, para as diferentes concentrações de CO <sub>2</sub> e períodos de exposição ao gás. Curitiba – PR, 2004.....	54
FIGURA 16 - Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz) nos períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	55
FIGURA 17 - Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência, nos períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	55
FIGURA 18 - Porcentagem de vigor obtida, por meio do teste de tetrazólio, para os períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.....	57
FIGURA 19 - Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência, para os períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.....	58

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Descrição dos tratamentos utilizados, concentrações de dióxido de carbono e períodos de exposição. Curitiba – PR, 2004.....	35
--	----

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – Características do gás dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ).....	69
ANEXO 2 – Análise de variância dos resultados do teste de tetrazólio para o vigor. Curitiba – PR, 2004.....	70
ANEXO 3 – Análise de variância dos resultados do índice de velocidade de emergência. Curitiba – PR, 2004.....	70
ANEXO 4 – Análise de variância dos resultados do teste de germinação. Curitiba – PR, 2004.....	71
ANEXO 5 – Análise de variância dos resultados do teste de tetrazólio para o potencial germinação. Curitiba – PR, 2004.....	71
ANEXO 6 – Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	72
ANEXO 7 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência (IVE) nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	72
ANEXO 8 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	73
ANEXO 9 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	73
ANEXO 10 – Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	74
ANEXO 11 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência (IVE) nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	75
ANEXO 12 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	76

ANEXO 13 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz), nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) e períodos de exposição ao CO <sub>2</sub> . Curitiba – PR, 2004.....	77
--	----

## ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE MILHO EM ATMOSFERA MODIFICADA COM DIÓXIDO DE CARBONO

### RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho e a produção destina-se desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. Entretanto, ainda são observadas produtividades relativamente baixas. Muitas vezes a baixa produtividade é consequência da qualidade da semente, que, armazenada sem o devido controle de pragas, afeta o estande inicial e o número de plantas por hectare. O expurgo pode ser considerado como a principal etapa de armazenamento, pois uma população residual de insetos, formada por poucos espécimes, pode transformar-se em uma alta infestação, inutilizando o lote armazenado. Uma das alternativas é o uso do dióxido de carbono em atmosferas modificadas que permita manter ao longo do tempo o vigor e a germinação das sementes de milho. O experimento foi conduzido na Casa de Vegetação e no Laboratório de Análise e Tecnologia de Sementes, no Campus I da Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, no período de junho a dezembro de 2004. O objetivo foi avaliar a germinação e o vigor das sementes de milho após armazenamento em atmosfera modificada com dióxido de carbono. Sementes de milho foram acondicionadas em embalagens plásticas, de alta barreira ao dióxido de carbono e oxigênio, com concentrações crescentes de CO<sub>2</sub> (0, 50, 75 e 90%) e períodos de exposição ao gás (0, 15, 30, 45 e 60 dias). O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 repetições por tratamento, em arranjo fatorial 4 x 5. Foram avaliados o vigor (teste de tetrazólio -Tz e índice de velocidade de emergência - IVE), a germinação das sementes (teste de germinação) e o potencial de germinação (Tz) após os períodos de exposição ao gás. Para o Tz foram utilizadas 2 repetições de 50 sementes. As sementes foram previamente umedecidas em rolos de papel. Logo após foram seccionadas longitudinalmente e colocadas em contato com o sal de tetrazólio (0,075%) por 6 horas e em seguida realizada a leitura. Para a determinação do IVE foram utilizadas caixas de madeira, com areia, mantidas na casa de vegetação por 14 dias e a leitura do número de plântulas normais foi realizada diariamente. Para o IVE foram utilizadas 4 repetições de 100 sementes para cada unidade experimental. O teste de germinação foi realizado em 8 rolos de papel como substrato, com 50 sementes cada, onde cada dois rolos formavam uma repetição. Isto foi realizado para cada unidade experimental e foram mantidos no germinador à temperatura de 25 °C por 8 dias, sendo a porcentagem de germinação determinada pelo número de plântulas normais. O Tz mostrou resultados com diferença significativa, para o vigor em relação ao CO<sub>2</sub> e ao período de exposição, onde o melhor vigor (81%) ocorreu com 75% de concentração do CO<sub>2</sub> e 60 dias de exposição ao gás, e com o IVE o melhor vigor (17,24) foi com 90% de concentração de CO<sub>2</sub> e 45 dias de exposição ao gás. Para quantificar a germinação foi realizado o teste de germinação o qual apresentou contaminação por fungos provocando erro nos resultados. Embora isso tenha acontecido mostrou diferença significativa somente para 30 dias de exposição ao gás e neste período a melhor porcentagem de germinação (83,30%) foi com 50% de concentração do gás e no Tz houve diferença significativa entre os tratamentos e a melhor porcentagem de germinação (90,75%) foi com 75% de concentração do CO<sub>2</sub> e 60 dias de exposição ao gás. Conclui-se que: a) as sementes de milho armazenadas por 60 dias sob atmosfera modificada com 75% de dióxido de carbono tiveram o melhor vigor e potencial de germinação; b) as sementes de milho armazenadas por 45 dias sob atmosfera modificada com 90% de dióxido de carbono tiveram o melhor vigor; c) as sementes de milho armazenadas por 45 dias sob atmosfera modificada com 75% de dióxido de carbono tiveram a melhor porcentagem germinação; d) a eficiência da atmosfera modificada com dióxido de carbono, na manutenção do vigor e germinação das sementes de milho, depende do tempo de exposição e das concentrações do gás.

**Palavras-chave:** expurgo, vigor, germinação, CO<sub>2</sub>.

## SEEDS OF CORN STORAGE IN MODIFIED ATMOSPHERE WITH CARBON DIOXIDE

### ABSTRACT

Brazil is one of the largest world producers of corn and the production is destined from the animal feeding to the industry of high technology. However, productivities are still observed relatively low. A lot of times the low productivity is consequence of the quality of the seed, that stored without the control of plagues, affects the initial stand and the number of plants per hectare. Expurgating can be considered as the main storage stage, because a residual population of insects, formed by few specimens, can become a high infestation, disabling the stored lot. One of the alternatives is the use of the carbon dioxide in modified atmospheres that allows to maintain along the time the vigor and the germination of the corn seeds. The experiment was conducted at the green house and in the Laboratory of Seed Analysis and Technology, in the Campus I of the Federal University of Paraná, Curitiba - PR, in the period of June to December of 2004. The objective was to evaluate the vigor and the germination of the corn seeds after storage in modified atmosphere with carbon dioxide. Corn seeds were conditioned in plastic bags of high barrier for carbon dioxide and oxygen with growing concentrations of CO<sub>2</sub> (0, 50, 75 and 90%) and exposition periods to the gas (0, 15, 30, 45 and 60 days). The statistical design was complete randomized design with 4 replications for each treatment, in a factorial arrangement 4 x 5. The vigor (tetrazolium test – Tz and index of emergency speed - IVG) and the germination of the seeds (germination test and Tz) were evaluated after the exposition periods to the gas. For Tz 2 replications of 50 seeds were used. The seeds were humidified previously in paper rolls. Therefore after they were cut longitudinally and placed in contact with the tetrazolium salt (0,075%) for 6 hours and soon after they were evaluated. For the determination of IVG wood boxes were used, with sand, maintained at the green house by 14 days and the reading of the number of normal seedlings was accomplished daily. For IVG, 4 replications of 100 seeds were used for each experimental unit. The germination test was accomplished in 8 paper rolls as substratum, with 50 seeds each, where each two rolls formed a repetition. This was accomplished for each experimental unit and they were maintained in the germinator to the temperature of 25 °C for 8 days, being the percentage of germination for the number of normal seedlings. Tz showed results with significant difference for the vigor in relation to the CO<sub>2</sub> and to the exhibition period, where the best vigor (81%) it happened with 75% of concentration of the CO<sub>2</sub> and 60 days of exhibition to the gas, and with IVG the best vigor (17,24) was with 90% of concentration of CO<sub>2</sub> and 45 days of exhibition to the gas. To quantify the germination the germination test was accomplished but presented contamination by fungus masking the results. Although that happened this only showed significant difference for 30 days of exhibition to the gas and in this period the best germination percentage (83,30%) was with 50% of concentration of the gas and in Tz there was significant difference between the treatments and the best germination percentage (90,75%) was with 75% of concentration of the CO<sub>2</sub> and 60 days of exhibition to the gas. The conclusion was that: a) the corn seeds stored by 60 days under modified atmosphere with 75% of carbon dioxide had the best vigor and germination potential; b) the corn seeds stored by 45 days under modified atmosphere with 90% of carbon dioxide had the best vigor; c) the corn seeds stored by 45 days under modified atmosphere with 75% of carbon dioxide had the best percentage germination; d) the efficiency of the modified atmosphere with carbon dioxide, in the maintenance of the vigor and germination of the corn seeds, depends on the time of exhibition and of the concentrations of the gas.

**Key Word:** expurgate, vigor, germination, CO<sub>2</sub>.

## 1 INTRODUÇÃO

O milho é caracterizado pelas diversas formas de sua utilização, que vai desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. O uso do milho em grão como alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal: cerca de 70% no Brasil (DUARTE, 2000). Apesar do restrito uso do milho em grão na alimentação humana, a utilização de seus derivados constitui fator importante no consumo desse cereal em regiões com baixa renda. Em algumas situações constitui o alimento principal como, por exemplo, no Nordeste do Brasil, onde é a fonte de energia para muitas pessoas que vivem no semi-árido.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho. Entretanto, ainda são observadas produtividades relativamente baixas (ANDREOLI *et al.*, 2002) colocando a média brasileira em  $2600 \text{ kg.ha}^{-1}$  (CANTARUTTI *et al.*, 2006). Um dos fatores do baixo nível de produtividade do milho é seu cultivo por grande número de pequenos produtores, a maioria inserida em um processo produtivo de baixa tecnologia, com técnicas de plantio e armazenamento inadequados. A baixa produtividade é consequência também da qualidade da semente, que, conseqüentemente, afeta o estande inicial e o número de plantas por hectare (TEKRONY e EGLI, 1991). Tekrony e Egli (1991) enfatizaram que um dos maiores problemas para a agricultura é utilizar sementes que não podem expressar seu potencial genético de produção. Além de fatores tais como adubação e preparo incorreto do solo e condições climáticas inadequadas, vários autores têm demonstrado que a baixa qualidade da semente afeta o vigor, o estande e, conseqüentemente, a produtividade (PERRY, 1972; SANTIPRACHA *et al.*, 1997; ANDREOLI e ANDRADE, 1998; WEBER, 1998).

O expurgo pode ser considerado como a principal etapa de armazenamento, pois uma população residual de insetos, formada por poucos espécimes, pode transformar-se em uma alta infestação, inutilizando o lote armazenado (PUZZI, 2000).

No expurgo de sementes o fumigante mais utilizado é a fosfina, a qual promove a corrosão de metais não ferrosos (SANTOS, 1993). Quando não utilizada corretamente, a fosfina tem promovido o aparecimento de populações de insetos resistentes a este fumigante (FARONI, 1997; CALIL, 1995; SARTORI *et al.*, 1990). Além disso, face às exigências do mercado atual para o consumo de alimentos organicamente produzidos, o tratamento com fosfina ou outro agente químico não deve ser realizado em quaisquer



etapas do processo produtivo (MUSSI, 2005).

Uma das alternativas ao expurgo com fosfina é o uso do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em atmosferas modificadas. As vantagens são que o CO<sub>2</sub> é não-inflamável, não-corrosivo, não-poluente, não-tóxico e não deprecia o valor comercial do produto fumigado (GONÇALVES *et al.*, 2000). Mesmo utilizado durante longo período, é pouco provável que o CO<sub>2</sub> afete a qualidade dos grãos armazenados sob atmosfera controlada (BANKS, 1984; BOND e MILLER, 1988) ou que promova populações de insetos resistentes.

Com base no exposto, formulou-se a hipótese de que a atmosfera modificada, em sementes de milho, com diferentes concentrações de dióxido de carbono e períodos de exposição ao referido gás, interferem de modo diferente no vigor e germinação das sementes de milho, sendo assim, por meio do estudo destas inter-relações será possível determinar a atmosfera modificada de CO<sub>2</sub> que permita manter ao longo do tempo o vigor e a germinação das sementes desta cultura.

O presente trabalho teve como objetivo geral, avaliar o vigor e a germinação das sementes de milho após armazenamento em atmosfera modificada com dióxido de carbono e com os objetivos específicos de: a) avaliar a germinação e o vigor das sementes de milho após armazenamento em atmosfera modificada com diferentes concentrações de dióxido de carbono; b) avaliar a germinação e o vigor das sementes de milho após armazenamento em atmosfera modificada com diferentes períodos de exposição; c) e estudar a relação entre as concentrações de dióxido de carbono e os períodos de exposição.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO MILHO

O milho é a mais importante planta comercial com origem nas Américas. Há indicações de que sua origem tenha sido no México, América Central ou Sudoeste dos Estados Unidos. É uma das culturas mais antigas do mundo, havendo provas, por meio de escavações arqueológicas e geológicas, e através de medições por desintegração radioativa, de que é cultivado há pelo menos 5.000 anos. Logo depois do descobrimento da América foi levado para a Europa, onde era cultivado em jardins, até que seu valor alimentício tornou-se conhecido. Passou então, a ser plantado em escala comercial e espalhou-se desde a latitude de 58° norte (União Soviética) até 40° sul (Argentina) (GODOY, 2002 e JUGENHEIMER, 1990 *apud* DUARTE, 2000).

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vai desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. O uso do milho em grão como alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal: cerca de 70% no mundo. Nos Estados Unidos cerca de 50% é destinado a esse fim, enquanto que no Brasil varia de 60 a 80% (DUARTE, 2000).

Apesar do restrito uso do milho em grão na alimentação humana, a utilização de seus derivados constitui fator importante no consumo desse cereal em regiões com baixa renda. Em algumas situações, o milho constitui o alimento principal como, por exemplo, no Nordeste do Brasil, onde o milho é a fonte de energia para muitas pessoas que vivem no semi-árido; outro exemplo está na população mexicana, que tem no milho o ingrediente básico para sua culinária.

Dentro da evolução mundial de produção de milho, o Brasil tem se destacado como terceiro maior produtor, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China. Apesar de estar entre os três maiores produtores, o Brasil não se destaca entre os países com maior nível de produtividade (DUARTE, 2000).

Segundo os dados do censo agropecuário (IBGE, 1996), 94,3% dos produtores de milho são responsáveis por 30% da produção, usando 45,63% da área destinada ao cultivo desse cereal no país. Por outro lado, 2,4% dos produtores cultivam 43,91% da área e produzem 60,08% do milho colhido no Brasil. Melhor idéia da participação dos pequenos

produtores no processo produtivo é que, aqueles que cultivam áreas menores que um hectare, com milho, representam 30,8% dos produtores e colhem apenas 1,89% da produção.

Em países em desenvolvimento, as perdas por falta ou por más condições de armazenagem chegam a atingir até 30% em alguns casos, 10% causados diretamente pelo ataque de pragas durante o armazenamento (SINHA, 1995).

A importância do milho ainda está relacionada ao aspecto social. Grande parte dos produtores não é altamente tecnificada, não possui grandes extensões de terras, mas depende dessa produção para viver. Isto pode ser constatado pela quantidade de produtores que consomem o milho na propriedade. Cerca de 60% dos estabelecimentos que produzem milho consomem a produção na propriedade. Apesar desse alto percentual de estabelecimentos que consomem o grão internamente, este representa apenas 24,93% da produção nacional de milho (IBGE, 1996). Pode-se, portanto, afirmar que há uma clara dualidade na produção de milho no Brasil. Uma grande parcela de pequenos produtores que não se preocupam com a produção comercial e com altos índices de produtividade, e uma pequena parcela de grandes produtores, com alto índice de produtividade, usando mais terra, mais capital e mais tecnologia na produção de milho.

No que diz respeito ao emprego de mão-de-obra, cerca de 14,5% das pessoas ocupadas nas lavouras temporárias e cerca de 5,5% dos trabalhadores do setor agrícola estão ligados à produção de milho. No setor agropecuário, a produção de milho só perde para a pecuária bovina em termos de utilização de mão-de-obra, apesar das tecnologias modernas utilizadas na produção desse cereal serem poupadoras de mão-de-obra (IBGE, 1996).

A produção de milho no Brasil representou apenas 0,5% do produto interno bruto (PIB), porém esses dados estão apenas retratando a produção do milho em grão (IBGE, 1996), não sendo considerados os milhos especiais e cultivos especiais, como é o caso da produção para silagem. Também não estão computando o efeito multiplicador dessa produção quando usada na alimentação de aves e suínos, produtos estes de alto valor agregado e de grande aceitação no mercado internacional.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho e a importância desta cultura não está apenas na produção em larga escala, mas em todo o relacionamento que essa cultura tem na produção agropecuária brasileira, tanto no que diz respeito a fatores econômicos quanto a fatores sociais. Pela sua versatilidade de uso, pelos desdobramentos de produção animal e pelo aspecto social, o milho é um dos mais importantes produtos do setor agrícola no Brasil.

## 2.2 A SEMENTE

As sementes têm a função de perpetuação e multiplicação das espécies. É o elemento principal no estabelecimento, expansão, diversificação e desenvolvimento da agricultura.

A semente representa o início de uma nova geração esporofítica e o primeiro passo, para sua formação, é a abertura do botão floral, que corresponde à maturidade sexual da planta (esporófito) (POPINIGIS, 1985). A semente é a estrutura vegetal formada pela maturação do óvulo fanerógeno após a sua fecundação (RAVEN *et al.*, 1996), desenvolve-se do rudimento seminal, após a fecundação da oosfera, consistindo de camadas protetoras que envolvem o embrião (TAIZ e ZIEGER, 2004).

As sementes iniciam nas flores, com a recombinação genética de gametas masculino e feminino, estabelecendo uma variabilidade genética favorável à adaptação das espécies. Uma semente é um óvulo fertilizado e desenvolvido, com grandes diferenças físicas entre as espécies, porém suas semelhanças são muitas e talvez mais importantes. Muitas vezes, o termo semente é usado em seu sentido funcional, indicando toda e qualquer estrutura vegetal capaz de reproduzir uma planta (POPINIGIS, 1985).

### 2.2.1 Morfologia da semente e conceito funcional

Após a fecundação vai ocorrer a formação da semente, que é constituída, de três componentes integrados, pelo embrião (formado pela união do núcleo espermático e oosfera), endosperma (formado pela união do núcleo espermático e núcleos polares) e tegumento (desenvolvimento dos integumentos) (POPINIGIS, 1984; COCUCCI e MARIATH, 2004).

O embrião das monocotiledôneas é constituído essencialmente por um eixo embrionário e um cotilédone. O cotilédone é chamado escutelo ou escudete e fica em contato com o endosperma. Ao lado oposto do escutelo, pode estar presente uma pequena protuberância, o epiblasto, considerado o rudimento do segundo cotilédone. O eixo embrionário é constituído por uma plúmula ou epicótilo na extremidade superior, de onde se originarão as primeiras folhas. A plúmula é envolvida por uma bainha protetora, o coleóptilo. Na extremidade inferior do eixo embrionário, encontra-se a radícula, da qual se originarão as raízes. A radícula é envolvida por uma bainha, a coleorriza (POPINIGIS, 1985).

Os elementos básicos da estrutura da semente são: tegumento, embrião e tecido de

reserva, mas do ponto de vista funcional, a semente é composta de uma cobertura protetora, um tecido de reserva e um eixo embrionário.

A cobertura protetora é a estrutura externa, que delimita a semente. Pode consistir apenas do tegumento, e em alguns casos, também do pericarpo. O tegumento é uma cobertura constituída por camadas celulares originárias dos integumentos ovulares. O pericarpo é originário da parede do ovário e em alguns casos, ele se desenvolve intimamente ligado ao tegumento, sendo impossível identificar qualquer ponto delimitante, como no caso das sementes (cariopses) de várias *Poaceas* (ex.: milho) (POPINIGIS, 1985).

A cobertura da semente tem como funções manter unidas as partes internas da semente, bem como fornecer proteção mecânica contra choques e abrasões, microrganismos e insetos. Também, lhe são atribuídas as funções reguladoras no processo de germinação. A cobertura da semente regula a entrada de água, oxigênio ( $O_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ), necessários à germinação, podendo causar uma impermeabilidade da cobertura a esses elementos, o que é reconhecido como um mecanismo de dormência. Esta regulagem de entrada de água evita ou diminui, também, possíveis danos causados pelas pressões desenvolvidas durante a embebição. Pode-se dizer, em resumo, que a cobertura protetora tem função não somente de proteção, mas também reguladora e delimitante também (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

O eixo embrionário depende de uma fonte de energia e de substâncias orgânicas para a elaboração de novas paredes celulares, citoplasma e núcleos, desde o início da germinação até que a plântula se torne autotrófica, em outras palavras, capaz de sintetizar matérias orgânicas pelo processo de fotossíntese. O tecido de reserva serve de suprimento nutritivo para o eixo embrionário, suportando seu crescimento inicial; o tecido de reserva atua como reservatório e como fornecedor de compostos orgânicos em forma simples para o eixo embrionário (POPINIGIS, 1985; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Em muitas plantas superiores, como nas *Poaceas* (arroz, milho, trigo), as reservas estão no endosperma das sementes. Entretanto, em muitas espécies de importância agrônômica, o endosperma é parcial ou totalmente absorvido durante o desenvolvimento da semente em favor dos cotilédones, que assume a função de tecido de reserva, a exemplo das *Fabaceas* (feijão, soja). Ainda, há casos em que o perisperma é encontrado como tecido de reserva observado nas *Chenopodiaceas* (quínua, beterraba). Estas sementes são denominadas perispérmicas. O embrião, durante o seu desenvolvimento, é nutrido pelo endosperma que pode ser parcialmente ou totalmente absorvido. As sementes maduras que apresentam endosperma são chamadas de albuminosas e as desprovidas desta estrutura são chamadas de exalbuminosas. Nas sementes albuminosas nota-se que o embrião é bem

menor que o endosperma. Em algumas espécies o embrião desenvolve-se tanto que acaba absorvendo todo o endosperma e acumulando substâncias de reserva nos cotilédones. Desta forma, a semente destaca-se por ter seus cotilédones extremamente volumosos. Em algumas sementes, mesmo tendo seus cotilédones bem desenvolvidos, observa-se um resquício do endosperma (POPINIGIS, 1985).

As reservas das sementes têm basicamente duas funções que se relacionam com a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula que apresente a capacidade de se manter de forma autotrófica (BEWLEY, 1997). As reservas podem funcionar como fonte de energia para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou como fonte de matéria para a construção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula. Em geral, os compostos acumulados nas sementes podem servir aos dois fins, pois os compostos de carbono normalmente acumulados em sementes (carboidratos, lipídeos e proteínas) podem ser utilizados tanto para produzir energia como para construir fisicamente as células (BUCKERIDGE *et al.*, 2004). Os teores aproximados de carboidratos, lipídeos e proteínas em sementes de milho são, respectivamente, 71%, 4% e 10% (MORRISON, 1966 *apud* POPINIGIS, 1985).

Há enorme variação na composição de sementes, mas as substâncias armazenadas em grande quantidade constituem os carboidratos, os lipídeos e as proteínas. Os dois primeiros servem de fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, enquanto que as proteínas têm como função armazenar principalmente nitrogênio e enxofre, essenciais para a síntese de proteínas, ácidos nucleicos e compostos secundários na plântula em crescimento (BUCKERIDGE *et al.*, 2004). O principal carboidrato de reserva nas sementes é o amido. Quando o amido é a substância de reserva predominante, a semente é denominada amilácea, por exemplo, a semente do milho. As sementes são denominadas oleaginosas quando lipídeos são as substâncias de reserva predominantes e protéicas quando estas são proteínas (POPINIGIS, 1985). Os lipídeos de reserva são armazenados em organelas específicas conhecidas como corpos lipídicos. Eles não são armazenados na forma de ácidos graxos livres, mas sob a forma de triglicerídeos. As principais proteínas de reserva são as albuminas, globulinas e prolaminas (UNIVERSITY OF KENTUCKY, 2005; OSBORNE, 1924 *apud* BUCKERIDGE *et al.*, 2004). As classificações, das proteínas, mais recentes apontam para dois critérios: função e relações bioquímicas e moleculares. Para o primeiro critério pode-se dividi-la em três classes: a) proteínas de reserva, cuja função é armazenar nitrogênio, carbono e enxofre; b) proteínas estruturais e metabólicas, que são essenciais para o crescimento e a estrutura da semente; c) proteínas de proteção, que podem conferir resistência a patógenos microbianos,

invertebrados ou dessecação. Em alguns casos a proteína pode apresentar uma combinação de funções como reserva e proteção (BEWLEY, 2001 *apud* BUCKERIDGE *et al.*, 2004).

O eixo embrionário é a unidade de propagação, cuja função é retomar o crescimento e formar um novo indivíduo adulto. É chamado de eixo porque inicia o crescimento em dois sentidos: para as raízes e para o caule (POPINIGIS, 1985). O eixo embrionário mais o(s) cotilédono(s) formam o embrião. Os cotilédones são estruturas seminais, de formato variável, ligadas ao eixo embrionário, com função de absorver e reservar alimentos do endosperma e/ou perisperma, que serão usados durante a germinação. O eixo embrionário é visivelmente menor quando comparado com outras partes da semente.

#### 2.2.1.1 Poder germinativo das sementes

O poder germinativo pode ser definido como a capacidade do embrião de reiniciar o crescimento e, sob condições ambientais favoráveis, dar origem a uma plântula normal (POPINIGIS, 1985). Esta característica é de difícil avaliação, uma vez que o fenômeno da dormência pode interferir acentuadamente nos testes de germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

No milho, não é constatada a presença de fatores inibitórios ao processo de germinação, visto que, sob condições ótimas de umidade, os grãos podem germinar imediatamente após a maturidade fisiológica, mesmo ainda presos à espiga. Em síntese, na germinação ocorre a embebição da semente, com a conseqüente digestão das substâncias de reserva, síntese de enzimas e divisão celular (MAGALHÃES *et al.*, 2003).

As RAS (Regras para Análise de Sementes) (Brasil, 1992) estabelecem e especificam padrões a serem utilizados, desde o tamanho da amostra até instruções para realização das análises de qualidade de sementes (MARCOS FILHO *et al.*, 1987; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

#### 2.2.1.2 Vigor das sementes

O vigor de uma semente, durante a maturação, é uma característica que acompanha, de maneira geral na mesma proporção, o acúmulo de matéria seca. Assim, uma semente atingiria seu máximo vigor quando se apresentasse com sua máxima massa

de matéria seca, podendo, é claro, haver defasagens entre as curvas, em função da espécie e condições ambientais que prejudiquem o correto desenvolvimento da semente, tais como temperatura, água, luminosidade, solo, etc. Desse ponto em diante, contudo, a evolução dessa característica se faria de maneira semelhante à característica da germinação, isto é, tenderia a se manter no mesmo nível, ou decresceria, na dependência de fatores ambientais e do modo e momento da colheita (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Em seguida da colheita deverá, imediatamente, ser efetuada uma secagem apropriada (temperatura entre 35 °C e 45 °C) para reduzir a velocidade respiratória e desacelerar o progresso inevitável da deterioração. Martins e Carvalho (1994) explicam que danos resultantes de temperaturas excessivas durante a secagem afetam, principalmente, a radícula das sementes.

#### 2.2.1.3– Estádio R<sub>6</sub> - maturidade fisiológica (milho)

Esse é o estágio em que os grãos na espiga alcançam o máximo de acúmulo de matéria seca e vigor; ocorre cerca de 50 a 60 dias após a polinização. A linha do amido já avançou até a espiga e a camada preta já foi formada. Essa camada preta ocorre progressivamente da ponta da espiga para a base. Neste estágio, além da paralisação total do acúmulo de matéria seca nos grãos, acontece também o início do processo de senescência natural das folhas da planta, as quais gradativamente começam a perder a sua coloração verde característica (RITCHIE e HANWAY, 1989; MAGALHÃES *et al.* 1994).

O ponto de maturidade fisiológica caracteriza o momento ideal para a colheita, ou ponto de máxima produção, com 30% a 38% de umidade, podendo variar entre híbridos. No entanto, o grão não está ainda em condições de ser colhido e armazenado com segurança, uma vez que deveria estar com 13% a 15% de umidade, para evitar problemas com a armazenagem. Com cerca de 18% a 25% de umidade, a colheita já pode acontecer, desde que o produto colhido seja submetido a uma secagem artificial antes de ser armazenado. A qualidade dos grãos produzidos pode ser avaliada pela percentagem de grãos ardidos (os grãos ardidos e pretos são aqueles que perderam o brilho e a coloração característicos do produto, pela ação do calor, umidade ou fermentação), que interfere notadamente na destinação do milho, em qualquer segmento da cadeia de consumo. A ocorrência de grãos ardidos está diretamente relacionada ao híbrido de milho e ao nível de empalhamento a que está submetida a sua espiga. Ainda de forma indireta, a presença de pragas, adubações desequilibradas e período chuvoso no final do ciclo, atraso na colheita e incidência de algumas doenças podem influir no incremento do número de grãos ardidos (RITCHIE e



HANWAY, 1989; MAGALHÃES *et al.* 1994; FANCELLI e DOURADO NETO, 2000). A partir do momento da formação da camada preta, que nada mais é do que a obstrução dos vasos, rompe-se o elo entre a planta mãe e o fruto, passando o mesmo a apresentar vida independente (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

### 2.3 GERMINAÇÃO

A germinação inicia com a absorção de água pela semente (processo denominado embebição) e termina com o início da alongação do eixo embrionário, geralmente da radícula. Isso inclui numerosos eventos como, por exemplo, a hidratação de proteínas, as mudanças nas estruturas das células, a respiração, a síntese de macromoléculas e a alongação celular, sem os quais, a semente não germina (POPINIGIS, 1985; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; CASTRO e HILHORST, 2004).

A germinação da semente envolve a superação da quiescência e a retomada do crescimento do embrião, isto é, o processo que conduz para a quiescência é revertido. A transcrição de genes é reassumida, a síntese de proteína é reiniciada e a taxa de respiração e o metabolismo intermediário aumentam drasticamente. O embrião, envolvido por uma cobertura protetora constituída, por várias camadas, de tecidos vivos e mortos, possui reservas alimentares suficientes para atender a esse eventual aumento das atividades metabólicas (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A germinação não inclui o processo de crescimento da plântula ou a emergência dessa do solo, mas em outras palavras, pode-se dizer, que a germinação é a transformação do embrião em uma plântula. Uma definição mais detalhada foi formulada por Carvalho e Nakagawa (2000): germinação é o fenômeno pelo qual, sob condições apropriadas, o eixo embrionário dá prosseguimento ao seu desenvolvimento, que tinha sido interrompido, nas sementes ortodoxas (por exemplo, o milho), por ocasião da maturidade fisiológica.

A germinação é um processo que, como todos os outros processos biológicos, consome energia. A germinação faz uso da energia proveniente da respiração, e como a semente, por mais baixo que seja o seu teor de água, nunca deixa de respirar, poder-se-ia, então, dizer que o processo maturação – germinação é ininterrupto; o que ocorre entre estas duas etapas aparentemente distintas é apenas uma redução da intensidade do fenômeno a tal ponto que parece nada estar ocorrendo. Esta redução acentuada na intensidade das atividades metabólicas verifica-se apenas nas sementes ortodoxas. As atividades metabólicas da semente, que culminam com a efetiva retomada de crescimento pelo eixo

embrionário, se aceleram à medida que a semente, em um substrato apropriado, absorve água (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

### 2.3.1 Embebição

A absorção de água pelas sementes é o início do processo de germinação. A quantidade total de água absorvida durante a embebição é relativamente pequena, embora essa quantidade possa chegar a três vezes o peso da semente. O subsequente crescimento da plântula, que envolve o estabelecimento do sistema radicular e da parte aérea, requer uma maior quantidade de água.

Quando uma semente seca embebe água, uma série de eventos se inicia e resulta, no final, com a emergência da radícula, significando que o processo de germinação se completou com sucesso. A duração de cada etapa da germinação depende, de certa forma, das propriedades das sementes (por exemplo: permeabilidade do tegumento, tamanho da semente e absorção de oxigênio) e das condições que prevalecem durante a hidratação (por exemplo: temperatura, conteúdo de umidade inicial, composição do substrato). A cinética de absorção de água pela semente é influenciada pelas propriedades das mesmas, bem como pelo ambiente no qual ela está situada (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A taxa inicial de embebição e a temperatura podem alterar acentuadamente a germinação e a qualidade da semente (vigor), sobretudo em sementes grandes. Tem-se observado por muito tempo que algumas sementes, como *Phaseolus vulgaris* (feijão) e *Zea mays* L. (milho), são danificadas pela embebição rápida em temperaturas baixas (CASTRO e HILHORST, 2004). Se estas sementes estiverem muito secas, quando colocadas na água, podem sofrer danos irreparáveis no nível do sistema de membranas, o que leva à lixiviação de conteúdos celulares afetando negativamente a germinação. As temperaturas baixas aumentam esse dano (WOLK *et al.*, 1989). Esse efeito prejudicial pode ser reduzido retardando-se a taxa de absorção de água, permitindo que a hidratação inicial da semente ocorra com vapor de água, quando na presença de umidade relativa elevada ou revestindo a semente para retardar a taxa inicial do influxo de água (CASTRO e HILHORST, 2004).

#### 2.3.1.1 Etapas do processo de absorção de água

Durante o processo de transformação do embrião em plântula, uma série de reações

de degradação e síntese assim como, desenvolvimento e diferenciação de tecidos, são observados. A água é o agente ativador de todo esse processo. A embebição da semente pela água é realizada por meio de processos físicos (em condições normais de suprimento); esse processo está dividido em três etapas fundamentadas no teor de água que a semente atinge (BEWLEY e BLACK, 1978):

- A primeira etapa é caracterizada por uma rápida absorção;
- A segunda etapa, quando pouca água é absorvida, permanecendo praticamente constante a concentração da mesma na semente e;
- A terceira etapa onde um segundo período de rápida absorção é verificado, coincidindo com o crescimento do embrião.

A primeira etapa é muito rápida e se completa em poucas horas, onde a semente atinge um teor de água entre 25% e 30%. Este teor é para as sementes cujo principal tecido de reserva é o tecido endospermático, por exemplo, o milho. O potencial de água de uma semente seca e madura é muito mais baixo que aquele do substrato úmido que a envolve. Essa etapa se caracteriza fisiologicamente por um acentuado aumento na intensidade respiratória, principalmente a partir de quando a semente atinge teores próximos a 16% de água. A intensificação do processo respiratório, aumentando linearmente com o grau de hidratação do tecido, resulta na produção de grandes quantidades de energia, a qual, em boa parte, será utilizada em uma série de reações bioquímicas. Ocorre um aumento no consumo de  $O_2$ , atribuído em parte à hidratação de enzimas mitocondriais, envolvidas no ciclo de Krebs e na cadeia de transporte elétrons. Essa etapa se caracteriza também, bioquimicamente, pelo início da degradação das substâncias de reserva (carboidratos, lipídeos e proteínas). Essas substâncias deverão nutrir o eixo embrionário para seu desenvolvimento. O transporte dessas substâncias desde a região de reserva até o eixo embrionário exige que estas substâncias sejam desdobradas em substâncias de menor tamanho molecular, permitindo um transporte mais fácil, pois se tratam de moléculas grandes, impossíveis de serem transportadas (WIELEWICKI, 2001; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; BEWLEY, 1997; BEWLEY e BLACK, 1978; CHING, 1972).

A segunda etapa se inicia quando a semente atinge teor de água entre 25% e 30% (endospermáticas). Durante essa fase, os principais eventos metabólicos acontecem na preparação para a emergência da radícula em sementes. A etapa II é conhecida como “etapa do descanso”, a semente está em equilíbrio com o meio externo. Esta fase também é caracterizada pela estabilização na absorção de  $O_2$ . A hidratação de todas as partes da semente está completa, bem como as enzimas pré-existentes (enzimas que permaneceram no embrião desde seu desenvolvimento) estão ativadas. As substâncias desdobradas no

tecido de reserva são transportadas para o tecido meristemático. O eixo embrionário ainda não consegue crescer. Esta fase dura 8 a 10 vezes mais que a anterior (WIELEWICKI, 2001; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; BEWLEY, 1997; BEWLEY e BLACK, 1978).

A terceira etapa inicia-se quando o teor de água da semente tem valores que variam de 35% a 40% (endospermáticas). Neste ponto, a semente volta a absorver água e respirar intensamente, tendo início o crescimento visível do eixo embrionário. Ao nível bioquímico, o que a caracteriza é que as substâncias desdobradas na etapa primeira e transportadas na segunda são reorganizadas em substâncias complexas, para formar o protoplasma e as paredes celulares, o que, em última análise, permite o crescimento do eixo embrionário. Evidentemente, o início de uma nova etapa não inibe a ocorrência da anterior; assim, quando a terceira etapa se inicia, a semente em germinação apresenta, simultaneamente, as três etapas (WIELEWICKI, 2001; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; BEWLEY, 1997; BEWLEY e BLACK, 1978).

### 2.3.2 Fatores que afetam a germinação

O processo de germinação das sementes depende de uma série de fatores, incluindo os endógenos (aqueles relacionados com a semente) e exógenos (aqueles relacionados com o ambiente). A disponibilidade de água, temperatura, oxigênio e luz são fundamentais para desencadear o processo germinativo.

Por outro lado, quando as sementes de determinada espécie, mesmo sendo consideradas viáveis, não germinam, embora sejam fornecidas todas as condições ambientais necessárias para tanto, elas são denominadas dormentes. O estado de dormência não deve ser confundido com o de quiescência, que é um estado de repouso em que, estando viável a semente, é facilmente superado com o fornecimento das condições ambientais necessárias (LUCCA-E-BRACCINI, 2001). Uma semente quiescente é aquela que inicia e completa o processo germinativo quando não existe insuficiência ou ausência de fatores ambientais e não há bloqueio na própria semente ou unidade de dispersão (CARDOSO, 2004). O estado de dormência é controlado por fatores endógenos e o de quiescência por fatores exógenos (AMEN, 1968). A semente do milho é dita quiescente, portanto esta semente pode não germinar por condições desfavoráveis de umidade, de temperatura e de oxigênio, mas não deixaria de germinar pela presença de elementos tóxicos (como inibidores químicos endógenos) capazes de impedir a germinação, pois não existe a presença destes elementos nas sementes desta espécie vegetal (CARVALHO e

NAKAGAWA, 2004).

### 2.3.2.1 Fatores endógenos

Primeiramente, para que uma semente possa germinar, esta deverá estar viva. O período que uma semente poderá viver depende de suas características genéticas e recebe o nome de longevidade. O real período de longevidade de uma semente é uma característica praticamente impossível de se avaliar. Seria necessário ter uma condição perfeita de armazenamento durante todo o período de longevidade da semente avaliada. Existem sementes que têm seu período de vida superior a 200 anos, o que torna inviável a armazenagem perfeita durante este extenso período (POPINIGIS, 1985).

O período que uma semente realmente vive é determinado pela viabilidade (nome dado à interação entre os fatores genéticos e os fatores ambientais) (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Então, fica claro que uma semente não poderá ter seu período de viabilidade maior que seu período de longevidade. A viabilidade é dependente das características genéticas e do vigor da planta progenitora, das condições climáticas predominantes durante a maturação das sementes, do grau de injúria mecânica e das condições ambientais de armazenamento.

É importante ressaltar que sementes de tegumento duro podem ser armazenadas por mais tempo comparativamente às de tegumento brando. As sementes imaturas geralmente sofrem, no armazenamento, redução de qualidade mais rapidamente que as sementes maduras. A longevidade da semente é bastante influenciada pelas condições de armazenamento, sobretudo pelo teor de água e pela temperatura ambiental (VILLELA e PERES, 2004).

### 2.3.2.2 Fatores exógenos

Os fatores do ambiente que influenciam o processo germinativo são: água, temperatura, oxigênio e, em alguns casos, luz.

Da absorção de água resulta hidratação dos tecidos com a conseqüente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário. Além desse papel de fundamental importância, a absorção de

água desempenha outros que, ainda que de menor importância que o primeiro, contribuem para o sucesso da germinação: o aumento de volume da semente, resultante da entrada de água em seu interior, provocando o rompimento da casca, o que vem, posteriormente, facilitar a emergência do eixo hipocótilo-radicular (ou outra estrutura qualquer) do interior da semente. Além disso, o solo imediatamente ao redor da semente, aquele com o qual vai estabelecer o primeiro contato a frágil e emergente estrutura do eixo embrionário, é corrigido estruturalmente pelas forças resultantes do aumento da semente (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Obviamente, a primeira exigência para a germinação é a água. Além disso, a germinação ocorre em determinada faixa de temperatura. Existem temperaturas mais apropriadas para a germinação, assim como temperaturas limitantes, dependendo da espécie (BASKIN e BASKIN, 1998; LABOURIAU, 1983; HOBBS e OBENDORF, 1972). A temperatura influencia a germinação tanto por agir sobre a velocidade de absorção de água, como também sobre as reações bioquímicas que determinam todo o processo. Assim, a germinação só ocorrerá dentro de determinados limites de temperatura: acima ou abaixo dos limites superior ou inferior, respectivamente, a germinação não ocorrerá. Com relação ao problema de vigor, uma semente terá exigências tanto mais específicas quanto menor seu nível de vigor: a faixa de temperatura ótima de uma semente de alto vigor é muito mais ampla do que a de uma de baixo vigor. Ainda, um grande número de espécies apresenta uma reação germinativa favorável à alternância de temperatura, em semelhança do que acontece em seu *habitat*, em que as temperaturas diurnas são muito diferentes que as noturnas.

As sementes também requerem oxigênio para que a germinação seja bem sucedida. A degradação das substâncias de reserva da semente para o fornecimento de nutrientes e energia para o desenvolvimento do eixo embrionário é um processo de queima desses produtos, no qual o oxigênio é o elemento principal (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Além disso, as sementes podem necessitar de luz para que germinem (CASTRO e HILHORST, 2004). Fica claro que a exigência de um conjunto específico de condições e fatores endógenos ou exógenos, para a germinação está relacionada às características particulares de cada semente.

## 2.4 RESPIRAÇÃO

A atividade respiratória é rapidamente iniciada uma vez que a semente começa a

embeber, a partir de um conteúdo de água ao redor de 20% (CASTRO e HILHORST, 2004; BEWLEY e BLACK, 1994). Diversas rotas e ciclos, como o ciclo de Krebs, são ativados. Uma temperatura mais baixa ou potencial hídrico reduzido atrasam ou reduzem a taxa absoluta de respiração, mas o padrão geral é consistente (DAHAL *et al.*, 1996; MASSARDO *et al.*, 2000). É dessa forma que, na maioria dos casos, mitocôndrias sobrevivem ao período seco, mantendo-se intactas e capazes de fosforilação oxidativa logo após a embebição, ainda que danos durante o armazenamento prolongado possam reduzir ou retardar o desenvolvimento da função mitocondrial (McDONALD, 1999). A quantidade de trifosfato de adenosina (ATP) em sementes secas é extremamente baixa, mas aumenta depressa durante a embebição, seguindo a atividade respiratória aeróbica, que é a principal fonte de ATP antes da emergência da radícula. Os níveis de ATP são mantidos constantes durante o intervalo entre a absorção de água e o consumo de oxigênio, apresentando valor global dinâmico, como resultado de síntese e utilização contínua do ATP. Quando as sementes são postas em uma atmosfera inerte (com ausência de oxigênio), o ATP é rapidamente usado (em poucos minutos). Devido à parada da oxidação terminal nas mitocôndrias não há reposição de ATP. Quando colocado de volta na presença do ar atmosférico (com presença de oxigênio), o valor de ATP é restabelecido com rapidez (PRADET, 1982; BEWLEY e BLACK, 1994). O ATP é requerido para os processos que exigem energia e que são associados à iniciação do crescimento do embrião (PERL, 1986). Em alguns casos, a penetração do oxigênio no embrião é restringida pelos tegumentos da semente, sendo a geração inicial de ATP feita por meio da glicólise e/ou da respiração anaeróbica, resultando no acúmulo de etanol (PRADET e RAYMOND, 1983). No último caso, há a produção de etanol, um processo natural que pode durar de algumas horas a vários dias. A maioria das sementes possui enzimas capazes de neutralizar o potencial tóxico do etanol. A respiração mitocondrial é iniciada nesses casos somente a partir da emergência da radícula, quando o embrião fica em contato direto com a atmosfera. Os substratos iniciais para a respiração são açúcares solúveis (sucrose e oligossacarídeos), mas reservas, como amido e lipídeos também, são logo utilizadas (AKAZAWA e MIYATA, 1982). O ATP e a nicotinamida adenina de fosfato (NADPH), gerados via respiração, são iniciados para gerar a síntese de ácidos nucléicos e de proteínas (CASTRO e HILHORST, 2004).

#### 2.4.1 Mecanismos respiratórios da semente

Os mecanismos respiratórios mais importantes encontrados nas sementes são a

glicólise, ciclo de Krebs, via das pentoses e o ciclo do ácido glicoxílico. Esses mecanismos respiratórios oxidam os substratos de reserva, produzindo diretamente moléculas de ATP (moléculas armazenadoras de energia) ou reduzindo coenzimas (nicotinamidas e flavinas). Essas coenzimas reduzidas são oxidadas no mitocôndrio, onde os elétrons percorrem a cadeia respiratória, transferindo sua energia para moléculas de ATP (POPINIGIS, 1985; CASTRO e HILHORST, 2004).

Cada mecanismo respiratório tem sua própria função na semente. Uns atuam como produtores de ATP, outros como fonte de ribose e redução de coenzimas ou na transformação de ácidos graxos em glicídios.

A glicólise compreende uma seqüência de reações no citoplasma, que se inicia com uma hexose (geralmente glicose) e termina com a formação de ácido pirúvico. A glicólise ocorre no citoplasma das células e não exige o oxigênio (PRADET e RAYMOND, 1983), mas também pode existir na presença de oxigênio aumentando o saldo do balanço energético em quatro vezes. Tanto na glicólise aeróbica como na anaeróbica ocorre o consumo de 2 ATP no início do processo respiratório (POPINIGIS, 1985).

O ciclo de Krebs também é chamado de ciclo do ácido cítrico ou ciclo dos ácidos tricarboxílicos. Este ciclo ocorre no mitocôndrio sob condições aeróbicas. É um processo cíclico porque o composto inicial (oxaloacetato) é regenerado toda vez que dois átomos de carbono são oxidados e removidos na forma de  $\text{CO}_2$ , e novo ciclo se inicia (POPINIGIS, 1985).

A via das pentoses é uma alternativa para a oxidação da glicose. Ocorre no citoplasma e exige a presença do oxigênio. O único substrato que pode entrar no ciclo é a glicose. Outros compostos precisam primeiramente ser transformados em glicose. Neste ciclo a produção de ATP é secundária. Sua principal importância está na produção de ribose para a síntese de RNA e DNA, bem como na produção NADPH que serve para a síntese de ácidos graxos e aminoácidos (POPINIGIS, 1985).

O ciclo glicoxílico encontra-se apenas em sementes ricas em lipídeos. As enzimas responsáveis por este ciclo são a malato-sintetase e a isocitrato-sintetase e estão confinadas em partículas chamadas glioxissomas. Estas enzimas não são ativas em sementes no estado quiescente, nem durante a maturação. No entanto, suas atividades aumentam rapidamente com o início da germinação, atingindo o ponto máximo quando a degradação dos lipídeos e a síntese de sucrose se encontram no auge (POPINIGIS, 1985).



#### 2.4.2 Fatores que afetam a respiração da semente

A velocidade respiratória da semente é influenciada pelo seu teor de umidade, pela temperatura, permeabilidade das membranas, pelo oxigênio e luz.

O teor de umidade da semente influi diretamente sobre sua velocidade respiratória. Durante sua maturação, há um período de rápido decréscimo no seu teor de umidade. Em consequência dessa desidratação, ocorre a inativação das macromoléculas e organelas, levando a semente ao estado quiescente. Neste estado a semente se caracteriza por um baixíssimo nível de atividade metabólica. Aumentando-se o teor de umidade da semente, aumenta a sua atividade respiratória. As sementes de milho com 45% de umidade, respiram aproximadamente 1500 vezes mais que aquelas a 12,8% de umidade e mesmo quando comparadas as sementes de milho com apenas 22% de umidade, com outras a 12,8% de umidade, existe uma diferença de 200 vezes mais para a primeira (DELOUCHE, 1970 *apud* POPINIGIS, 1985).

A temperatura e o teor umidade são diretamente proporcionais à respiração. Quanto mais alta a temperatura, mais alta será a velocidade respiratória da semente com rápida absorção de oxigênio. Todavia, há uma interação entre a temperatura e o período de tempo de exposição das sementes, de modo que os seus efeitos não podem ser tomados isoladamente (POPINIGIS, 1985; DAHAL *et al.*, 1996).

O aumento da concentração de oxigênio também pode elevar a velocidade respiratória da semente, porém isto se aplica apenas para concentração de oxigênio inferior a 20%, sendo a maior velocidade respiratória alcançada nesse ponto e é claro, desde que exista permeabilidade suficiente do tegumento da semente (PRADET, 1982; BEWLEY e BLACK, 1994).

A respiração aeróbica só poderá ocorrer se o oxigênio puder difundir-se livremente para o tecido que está respirando e será mais rápida quanto menor for a restrição das membranas à troca de gases. Se a difusão de oxigênio for limitada, a velocidade respiratória da semente será reduzida (CASTRO e HILHORST, 2004).

Outro fator que pode afetar a respiração da semente é a luz, entretanto a semente tem que ser sensível à luz. A maioria das espécies cultivadas germina na presença ou ausência de luz, todavia há outras espécies que apresentam um comportamento diferenciado, necessitando um determinado tempo de exposição à luz (TAIZ e ZIEGER, 2004; ZAIDAN e BARBEDO, 2004; SALISBURY e ROSS, 1992).

## 2.5 DETERIORAÇÃO DE SEMENTES

A deterioração inclui toda e qualquer transformação degenerativa irreversível, após a semente ter atingido seu nível de máxima qualidade. A deterioração é inevitável, irreversível, variável entre espécies, variável entre lotes de uma mesma espécie e variável entre sementes do mesmo lote (DELOUCHE, 1968; HARRINGTON, 1972).

A deterioração da semente não pode ser evitada, porém a sua velocidade pode ser controlada até certo ponto, pelo emprego de técnicas adequadas de produção, colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento. A redução do processo de deterioração a nível mínimo depende basicamente da espécie e das condições as quais cada lote foi submetido antes do armazenamento.

Embora haja dificuldade na diferenciação entre causas e conseqüências do processo de deterioração de sementes (MARCOS FILHO, 1999), pode-se dizer que é conseqüência deste processo, algumas alterações nestes organismos. Essas alterações recebem o nome de transformações degenerativas e podem ocorrer na seguinte seqüência (DELOUCHE, 1969 *apud* POPINIGS, 1985; DELOUCHE e BASKIN, 1973):

- a) Degeneração das membranas celulares e subseqüentes perdas do controle da permeabilidade;
- b) Danificação dos mecanismos de produção energética e de biosíntese;
- c) Redução das atividades respiratória e de biosíntese;
- d) Germinação e crescimento da plântula mais lento;
- e) Redução do potencial de armazenamento;
- f) Crescimento e desenvolvimento da planta mais lento;
- g) Menor uniformidade no crescimento e no desenvolvimento das plantas resultantes;
- h) Maior susceptibilidade às adversidades ambientais (inclusive microrganismos);
- i) Reduzido potencial para produzir uma população de plantas;
- j) Maior percentagem de plântulas anormais;
- k) Perda de poder germinativo.

O processo de deterioração das sementes é muito complexo, pois envolvem diversas variáveis de características bioquímicas e fisiológicas. Inúmeras teorias foram lançadas para tentar explicar esse processo. O fato é que nenhuma teoria de deterioração é aceita sem restrições, isto devido à dificuldade em apresentar evidências experimentais. Provavelmente, nenhum dos mecanismos é responsável único pela deterioração da semente, mas é possível que diferentes mecanismos atuem sob diferentes condições, ou

talvez, cada mecanismo contribua parcialmente e a deterioração seja o resultado da interação e sinergismo de diversas causas (POPINIGIS, 1985). Dentre as principais alterações envolvidas na deterioração das sementes, destaca-se o esgotamento das reservas alimentares, a alteração da composição química, como a oxidação dos lipídeos e a quebra parcial das proteínas, a alteração das membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização, as alterações enzimáticas e as alterações de nucleotídeos.

## 2.6 QUALIDADE FISIOLÓGICA DA SEMENTE

Denomina-se qualidade fisiológica da semente à sua capacidade de desempenhar funções vitais, caracterizadas pela sua germinação, seu vigor e sua longevidade. A alta qualidade da semente reflete-se diretamente na cultura resultante, em termos de uniformidade da população, da ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas e da maior produtividade (POPINIGIS, 1985).

O primeiro passo em direção ao máximo rendimento das culturas é obtido através de uma população recomendável de plantas, a qual requer que sementes de alta qualidade sejam semeadas. As sementes de alta qualidade são aquelas que apresentam elevada pureza, sanidade, viabilidade e vigor.

As sementes puras apresentam alta qualidade física e genética. A pureza física implica na ausência de impurezas tais como palhas, folhas, sementes de plantas daninhas, sementes de outras culturas, etc. A pureza genética implica que o lote de sementes contenha apenas sementes com características conhecidas da variedade ou cultivar em análise (POPINIGIS, 1985).

As sementes sadias são aquelas que não contêm insetos, fungos, vírus, bactérias ou que tenham sido tratadas com produtos químicos, reduzindo a infestação e/ou infecção das sementes.

A viabilidade de um lote de sementes é expressa em termos de percentagem de sementes vivas capazes de germinar. Muitas vezes, as determinações, viabilidade e germinação são semelhantes, por isto o teste padrão de germinação pode ser utilizado para ambas as determinações. Entretanto, cabe lembrar que nem toda semente viável irá germinar. A metodologia do teste de germinação tem sido padronizada para estabelecer um alto nível de reprodução e confiança do teste, por meio das Regras para Análise de Sementes (RAS), estabelecida no Brasil em seu Ministério de Agricultura (BRASIL, 1992).

Estas regras contêm, entre outras, recomendações de substratos a serem usados para cada espécie, temperatura de incubação, necessidade de luz e períodos das avaliações.

Em termos fisiológicos, germinação é definida como o processo que inicia com a absorção de água, até a protusão da raiz primária através do tegumento da semente. As Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 1992) discordam desta definição e descrevem germinação em termos de morfologia de plântula. Uma semente é considerada como germinada somente se originar uma plântula. A semente que produz plântula anormal não é incluída na contagem da germinação, embora a emergência da raiz primária e seu subsequente desenvolvimento tenham sido observados. Por exemplo, um resultado de germinação de 60%, não implica, necessariamente, que 40% das sementes estejam mortas. A ficha de anotações da análise de sementes indica a percentagem de plântulas normais e anormais, sementes dormentes e mortas, observadas no teste. De acordo com a RAS, sob condições de campo, as plântulas anormais teriam poucas condições de desenvolverem-se e tornarem-se plantas produtivas, sendo por isso, desconsideradas na percentagem final de germinação.

Na prática, a porcentagem de viabilidade ou de germinação não reflete necessariamente a percentagem de emergência, a qual é obtida sob condições de campo. A alta germinação do lote de sementes de cultivares semelhantes, sua classe de certificação e idade cronológica influenciam no desempenho das sementes no campo. O componente da qualidade, resultante da diferença entre alta germinação do lote de sementes e eficiência no campo, é referido como vigor de sementes (POPINIGIS, 1985).

### 2.6.1 Vigor da semente

O vigor da semente detecta as modificações deletérias mais sutis resultantes do avanço da deterioração, não revelado pelo teste de germinação. O vigor pode ser avaliado como aquela propriedade das sementes que determina a sua emergência sob condições desfavoráveis (HILHORST *et al.*, 2001). Trata-se de um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de sementes de alta germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento no ambiente (HAMPTON e TEKRONY, 1995). A definição de vigor de sementes como formulada pela Association of Official Seed Analysts (AOSA) (1983) é semelhante: o vigor de sementes é tido como aquela propriedade das sementes que determina o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob uma ampla faixa de condições

de campo.

Algumas definições dadas (ISTA, 1999; ISTA, 1993; BRASIL, 1992; AOSA, 1983), apenas descrevem as conseqüências práticas do vigor das sementes, sendo este referido como um índice ou aquela propriedade da semente. A razão para isso é simples: o vigor das sementes não é uma única propriedade mensurável, como germinação, mas um conceito descrevendo inúmeras características associadas com a produção no campo.

Muitas características fisiológicas e bioquímicas, juntamente com suas complexas interações, contribuem para o vigor das sementes. A exata contribuição e a interação entre essas propriedades das sementes, não são entendidas completamente, por isso a falta de precisão sobre o que é realmente vigor de sementes. O que facilmente é entendido são as conseqüências práticas do vigor das sementes, considerando um estabelecimento padrão. Embora essas definições acentuem a representação do campo, o vigor das sementes também tem conseqüências importantes no armazenamento destas, pois quanto menor o vigor das sementes, mais baixo será o potencial de armazenamento (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A ocorrência da deterioração das sementes pode ser considerada como a principal causa da redução do vigor. A deterioração das sementes durante a colheita, o beneficiamento e o armazenamento, ocorre numa taxa fortemente influenciada pela genética, fatores produtivos e ambientais. Esse tempo pode levar poucos dias a muitos anos, sendo geralmente progressivo e seqüencial, embora seja muito difícil a distinção das causas primárias e efeitos secundários. Os danos físicos nas membranas celulares e a idade da semente, provavelmente sejam a causa principal da deterioração das sementes. A respiração, a redução da produção de etileno (NASCIMENTO, 2000), as mudanças hormonais, as alterações na replicação celular e na síntese de DNA e RNA (CRUZ-GARCIA, *et al*, 1995), os danos genéticos, a acumulação de metabólitos tóxicos e a formação de radicais livres (FERGUNSON *et al.*, 1990) estão também envolvidos na deterioração. A deterioração das sementes é manifestada como uma redução progressiva na capacidade produtiva, incluindo a redução na taxa e uniformidade de germinação, reduzindo a tolerância ao estresse ambiental, com emergência inferior e menor desenvolvimento da plântula (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Ela é importante para distinguir a perda de vigor que precede a perda da capacidade de germinação. O resultado do teste de germinação, conduzido depois do armazenamento das sementes é, portanto, inadequado para representar o grau de deterioração que possa ter ocorrido nas sementes durante o armazenamento.

O vigor das sementes é um componente de qualidade tão importante que cientistas

têm direcionado as pesquisas para testes de laboratórios rápidos e simples, que sejam capazes de fornecer uma indicação do vigor das sementes.

Os testes de vigor estão disponíveis para muitas culturas agrícolas, hortícolas e plantas silvícolas. Estão sendo usados rotineiramente pela indústria de sementes durante a produção da cultura, do beneficiamento, do armazenamento e antes da comercialização.

## 2.6.2 Fatores que afetam a qualidade fisiológica da semente

Para Popinigis (1985) a qualidade fisiológica da semente pode ser afetada por fatores genéticos, adversidades durante o desenvolvimento da semente e após a maturação fisiológica, grau de maturidade, tamanho e densidade da semente, injúrias mecânicas e térmicas, teor de umidade durante o armazenamento, condições ambientais do armazém, tipo de embalagem, ataques por insetos e ataques por fungos. Todas as condições favoráveis devem ser oferecidas à cultura destinada à produção de sementes, para que estas atinjam o nível mais alto e qualidade que o seu potencial genético lhes permite. Para tanto, devem ser eliminados os fatores desfavoráveis à qualidade da semente, tais como deficiências minerais e de umidade no solo, ataques por doenças e insetos, entre outros.

Desde que a semente tenha sido produzida, colhida, secada e beneficiada observando-se, criteriosamente, os fatores que afetam sua qualidade fisiológica durante essas operações, a preservação dessa qualidade fica na dependência das condições de armazenamento (VILELA e PERES, 2004).

## 2.7 ARMAZENAMENTO

O armazenamento das sementes é iniciado na maturidade fisiológica e o maior desafio está em conseguir que as sementes, após certo período, ainda apresentem elevada qualidade fisiológica. Assim sendo, o objetivo é manter a qualidade das sementes durante o período em que ficam armazenadas, visto que seu melhoramento não é possível mesmo sob condições ideais (VILLELA e PERES, 2004).

No ambiente de armazenamento, a conservação das sementes está relacionada ao seu grau de umidade, à temperatura e à disponibilidade de oxigênio. Geralmente, é favorecida pela diminuição da atividade metabólica decorrente de reduções no grau de umidade, na temperatura, na umidade relativa e na concentração de oxigênio (ROBERTS,

1972).

Quanto ao comportamento em relação ao armazenamento, as sementes são classificadas em recalcitrantes e ortodoxas.

As sementes recalcitrantes não podem ser secas abaixo de determinado teor de água sem que ocorram danos fisiológicos. Há sementes de alta e baixa recalcitrância, umas mais e outras menos sensíveis à secagem e/ou baixas temperaturas. Estas sementes não podem ser secas pelos métodos tradicionais e quando armazenadas perdem a viabilidade em curto espaço de tempo (VILLELA e PERES, 2004; HONG e ELLIS, 1996; ROBERTS, 1973).

Por outro lado, as sementes ortodoxas podem ser secas até baixos teores de água (5% a 7%) e armazenadas em ambientes com baixas temperaturas. Após a colheita, podem sofrer secagem artificial e ser armazenadas por longos períodos, preferencialmente a baixas temperaturas; são resistentes às adversidades no período de latência e, em condições adequadas, germinam. São facilmente armazenadas em regiões de clima frio, necessitam de alguns cuidados no armazenamento em regiões de clima temperado e exigem intenso controle das condições de armazenamento em regiões de clima tropical (VILLELA e PERES, 2004; HONG e ELLIS, 1996; ROBERTS, 1973).

As sementes que apresentam comportamento ortodoxo quando armazenadas com teor de água entre 9% e 13%, mas que, ao serem secas a 7%, perdem significativamente a viabilidade são classificadas como subortodoxas ou intermediárias (VILLELA e PERES, 2004; HONG e ELLIS, 1996; ROBERTS, 1973).

Recentemente, os conceitos de semente ortodoxa, intermediária e recalcitrante, que até então apresentavam uma abordagem qualitativa, passaram a ter um enfoque quantitativo (WALTERS, 2000), levando em consideração a magnitude da tolerância à dessecação entre as sementes altamente sensíveis e as que suportam a perda da maior parte da água presente (BERJAK e PAMMENTER, 2000).

Adequadas condições de armazenamento para a conservação de sementes podem ser obtidas pela localização dos armazéns em locais onde as condições climáticas sejam favoráveis, sendo necessária a secagem da semente até o teor de água seguro. Por outro lado, se as condições climáticas forem desfavoráveis ou se o período de armazenamento for prolongado, a alternativa será a modificação artificial das condições ambientais.

Na conservação de sementes ortodoxas em bancos de germoplasma, são recomendadas temperaturas abaixo de 0 °C e umidade relativa do ar inferior a 25% ou 30% para a preservação da qualidade fisiológica por longos períodos.

O comportamento das sementes no armazenamento depende, além do grau de

umidade, da disponibilidade de oxigênio (OLIVEIRA-GENTIL, 2003). Desse modo, sob condições anaeróbicas, o período de conservação de sementes ortodoxas declina com o aumento do grau de umidade enquanto, sob condições aeróbicas, o período de conservação tende a elevar-se (PROBERT e SMITH, 1996; ROBERTS e ELLIS, 1989); isso ocorre porque, embora a deterioração progrida com a elevação do grau de umidade, os mecanismos celulares de reparo acionados são mantidos pelo metabolismo durante a respiração aeróbica (IBRAHIM e ROBERTS, 1983; IBRAHIM *et al.*, 1983).

Para a preservação da qualidade fisiológica de sementes sob atmosfera controlada é importante a observância do tipo de embalagem utilizada, pois essas influenciam na preservação das sementes (SALTVEIT, 2003).

### 2.7.1 Embalagens

Para quaisquer condições, quanto menores a temperatura e o teor de umidade da semente, mais reduzida a atividade, o desenvolvimento e a reprodução de insetos. Por isso, as condições de baixa temperatura e reduzida umidade relativa do ar, empregadas na conservação da qualidade fisiológica da semente, favorecem também o controle dos insetos dos grãos armazenados.

As embalagens, quanto à permeabilidade ao vapor d'água, podem ser classificadas em permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis (VILLELA e PERES, 2004; CORRÊA, 1997).

As embalagens permeáveis permitem a troca de vapor d'água entre as sementes nela armazenada e o ambiente externo. Por isso o teor de água das sementes sofre flutuações com as variações de umidade relativa do ar. As embalagens permeáveis são confeccionadas com papel, algodão, juta ou fitas de polipropileno trançado (VILLELA e PERES, 2004).

As embalagens semipermeáveis mostram-se resistentes à troca de vapor d'água entre as sementes e o ambiente externo. Os materiais utilizados nesse tipo de embalagem são polietileno de baixa espessura (baixa densidade) e combinações de papel com outro material (VILLELA e PERES, 2004).

As embalagens impermeáveis impedem o intercâmbio de vapor d'água entre as sementes e o meio externo. Geralmente, são empregados sacos de polietileno espesso (de média e de alta densidades), envelopes de alumínio, embalagens metálicas, vidro com tampa hermética e outros (VILLELA e PERES, 2004).



A função destas embalagens também está na eliminação do oxigênio existente em seu interior até num nível que suprima ou inativa a capacidade de reprodução e/ou desenvolvimento de insetos e alguns fungos. Os processos respiratórios, dos integrantes bióticos do granel (grãos ou sementes, insetos, fungos, etc.), consomem o oxigênio existente no ambiente, produzindo o dióxido de carbono. Como o acondicionamento hermético impede a passagem de ar e gases entre o interior e o exterior da embalagem, uma vez que a atmosfera se modifica, esta não retorna às condições favoráveis para reprodução de pragas, assegurando-se a conservação, dos grãos ou sementes, no tempo. Neste processo há variação da temperatura e umidade da massa de grãos em razão do processo respiratório, dos organismos presentes no interior da embalagem (RODRÍGUEZ *et al.*, 2003; BARTOSIK e RODRÍGUEZ, 1999).

O emprego de embalagem de polietileno vem apresentando resultados satisfatórios no armazenamento de sementes de diversas espécies (BARRUETO *et al.*, 1986; SPALDING *et al.*, 1976).

As embalagens plásticas são consideradas por Stubsgaard (1992) como as mais versáteis para armazenamento de sementes. Mussi (2005) encontrou diferença significativa quanto ao tipo de embalagem em relação à germinação e vigor de sementes, onde as embalagens de alta barreira (*nylon*) foram as que apresentaram melhores resultados.

#### 2.7.1.1 Embalagens plásticas impermeáveis na fisiologia do grão ou semente

A energia que os seres vivos necessitam para crescer e se desenvolver é obtida do processo respiratório, sendo parte de uma série complexa de reações químicas iniciadas por enzimas presentes nos próprios organismos. Na presença de oxigênio (O<sub>2</sub>) é produzida a respiração aeróbica, com a combustão completa dos hidratos de carbono, passando de produtos complexos como o amido ao dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), água e energia. Parte desta energia se transformará em calor, devido às reações exotérmicas e outra será utilizada para a síntese de outros compostos {C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> + 6O<sub>2</sub> = 6CO<sub>2</sub> + 12H<sub>2</sub>O + 677 kcal} (BOGLIACCINI, 2001).

Na ausência de O<sub>2</sub>, alguns organismos como fungos e bactérias, podem se desenvolver decompondo hidratos de carbono, em forma incompleta, produzindo ácido láctico, acético e álcoois. Esta reação se chama fermentação anaeróbica, a qual libera menos calor do que quando em presença de ar e esta é produzida nos ambientes herméticos com alta porcentagem de umidade {C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> = 2C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH + 2CO<sub>2</sub> + 22kcal}.

Siebenmorgen *et al.*, (1986) logrou a conservação de grãos sem o uso de expurgos ou fumigações na massa de grãos, apenas promovendo um ambiente hermético e deixando que a respiração dos grãos, insetos e microrganismos produzissem uma atmosfera rica em CO<sub>2</sub> e pobre em O<sub>2</sub>. Desta forma, Siebenmorgen *et al.*, (1986) inibiram a atividade dos insetos e microrganismos presente nos grãos.

A atividade respiratória dos insetos e grãos confinados provoca a redução dos níveis de O<sub>2</sub> e o aumento de CO<sub>2</sub> na massa de grãos embalada hermeticamente. Quanto maior é a atividade da massa de grãos, mais rápido será o consumo de O<sub>2</sub> e a geração de CO<sub>2</sub>. Oxley e Wickenden (1963), *apud* Bogliaccini (2001), estudaram o consumo de O<sub>2</sub> e a geração de CO<sub>2</sub> em trigo embalado hermeticamente, infestado com 13 e 133 *Sitophilus granarius* por kg. Estes autores observaram que no trigo infestado com 13 *Sitophilus granarius* por kg a produção de CO<sub>2</sub> foi se incrementando até aos 20 dias, onde se estabilizou em 14% e a porcentagem de O<sub>2</sub> diminuiu de 21% para 2%. No caso do trigo infestado com 133 *Sitophilus granarius* por kg, o consumo de O<sub>2</sub> foi muito mais rápido, diminuindo a 3% em apenas 5 dias e a quase 0% em 10 dias. Já para sementes recalcitrantes a recomendação é não exceder o período de 10 dias de exposição ao CO<sub>2</sub> (ATSC, 1995).

Os trabalhos referidos ao controle de insetos e alguns microrganismos, em grãos, com atmosfera modificada são extensos e têm merecido importantes revisões (ANNIS, 1986; SARY *et al.*, 1993; LARS SCHMIDT, 2000), principalmente quando acondicionados em embalagens plásticas. Estes trabalhos baseiam-se na modificação da atmosfera por meio da adição de gases (N<sub>2</sub> e/ou CO<sub>2</sub>), com o intuito de eliminar o oxigênio e criar, desta forma, um ambiente desfavorável ao desenvolvimento de insetos e fungos. A literatura estabelece que concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, tempo de exposição, espécie de inseto, estado de desenvolvimento (ovo, larva, pupa ou adulto), temperatura e umidade relativa são os principais fatores que influenciam a mortalidade dos insetos nos tratamentos de controle. Os estudos de controle de insetos, com atmosferas controladas ou modificadas, podem ser classificados em atmosferas com baixa concentração de O<sub>2</sub> e atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub>.

A embalagem impermeável também impede a perda de água por evaporação. A água, além de conferir estabilidade estrutural às membranas e às proteínas, participa ativamente dos processos metabólicos. Quando é removida, abaixo do limite suportado pela célula, pode ocorrer aumento da concentração de solutos, alteração do pH da solução intracelular, aceleração de reações degenerativas, desnaturação de proteínas e perda da integridade das membranas (SUN e LEOPOLD, 1997).

### 2.7.2 Proteção das sementes contra o ataque de pragas

O êxito no controle das pragas que atacam as sementes armazenadas requer a correta identificação dos insetos presentes na massa de sementes para a escolha do inseticida e da dose a ser utilizada. O resultado da ação de insetos em sementes armazenadas traduz-se em perdas de peso e poder germinativo, desvalorização comercial do produto, disseminação de fungos e surgimento de bolsas de calor durante o armazenamento.

Os insetos podem tornar-se importantes agentes causadores de injúrias à semente no campo ou durante o armazenamento e reduzir drasticamente sua qualidade fisiológica. Segundo Howe (1973) *apud* Popinigis (1985), a germinação e o vigor da semente podem ser afetados pela presença de insetos de diversas maneiras:

- Se houver aumento da população de insetos, ela pode tornar o local de armazenagem prejudicial à qualidade da semente, causando, simultaneamente, aumento da temperatura e umidade. Com isso haverá, certamente, na massa de grãos, os chamados bolsões de calor que provocam perdas econômicas incalculáveis;
- Os embriões podem ser danificados ou mortos pela alimentação dos insetos (adultos ou larvas ou ainda pela ovoposição). Se o embrião sobrevive, pode ter havido tanto consumo do endosperma, que as reservas podem ser insuficientes para o desenvolvimento de uma plântula;
- Os insetos podem introduzir fungos na semente e estes podem vir a consumi-la ou debilitá-la, ou ainda, atacar a plântula por ela originada;
- Os insetos podem construir casulos e teias que ligam as sementes formando estruturas, que interferem na livre movimentação das sementes, comprometendo o bom andamento da semeadura;
- Tratamentos aplicados para controle dos insetos podem reduzir a germinação e o vigor das sementes.

Os insetos que atacam as sementes armazenadas são os mesmo que atacam grãos e cereais. Estes insetos são comumente chamados de pragas dos grãos armazenados. Os mais prejudiciais são aqueles que atacam o embrião, destruindo rapidamente o poder germinativo. Outros insetos vivem no interior da semente, porém se alimentam principalmente do endosperma, reduzindo as reservas alimentares. Neste caso a semente perde o seu vigor e poderá gerar uma plântula débil ou incapaz de sobreviver.

Baran *et al.* (1993) observaram que além de insetos, os fungos também são

controlados na massa de grãos, quando expostos às atmosferas controladas e enriquecidas com CO<sub>2</sub>. Estes autores conseguiram inibir o crescimento de fungos e retardaram a síntese de micotoxinas em milho contaminado com *Aspergillus*.

Um programa de controle efetivo dos insetos no campo e no armazenamento pode manter a semente livre desses agentes destrutivos. Esse programa deve incluir o expurgo da semente e tratamento com inseticida antes do armazenamento e controle sanitário do armazém (POPINIGS, 1985), com a devida realização do expurgo, na semente armazenada, caso seja necessário.

## 2.8 EXPURGO

Além de atuarem como consumidores, os insetos afetam, negativamente, o valor intrínseco das sementes, principalmente, ao propiciar a ação de microrganismos indesejáveis.

Para Puzzi (2000) o expurgo pode ser considerado como a principal etapa de armazenamento, pois uma população residual de insetos, formada por poucos espécimes, pode transformar-se em uma alta infestação, inutilizando o lote armazenado.

As sementes de milho, nas condições brasileiras, são rotineiramente tratadas, considerando-se que os produtos aplicados nas sementes, eficientes na preservação, sejam de menor impacto ambiental do que os utilizados em campo (FESSEL *et al.*, 2003). A preservação da qualidade das sementes, durante o armazenamento, colabora para o efetivo aproveitamento dos investimentos despendidos na produção (CARVALHO, 1992).

De acordo com Popinigis (1985) e Weber (1998), o expurgo apresenta uma série de inconvenientes, pois é tóxico ao ser humano e aos animais, e pode afetar adversamente a germinação da semente. Em geral, o brometo de metila (em desuso) e o bissulfeto de carbono oferecem maior risco à qualidade fisiológica da semente, sendo a fosfina mais empregada no expurgo de sementes, por oferecer risco menor.

O uso indiscriminado da fosfina tem promovido o aparecimento de populações de insetos resistentes a este fumigante (FARONI, 1997; CALIL, 1995; SARTORI *et al.*, 1990), principalmente, devido à alta frequência de aplicações de dosagens incorretas em períodos de exposição inadequados e em ambientes não-herméticos. Esta resistência leva ao uso de dosagens cada vez mais elevadas, ao aumento do tempo de exposição, aos níveis inaceitáveis de resíduos, à possibilidade de intoxicação dos operadores e, conseqüentemente, ao aumento dos custos sociais, ambientais e de produção (ANNIS,

1990; WHITE e LEESCH, 1996). A fosfina, quando em contato com a água ou em superdosagens, existe o risco de explosão, além de ter o efeito residual curto, o que exige controles químicos posteriores em armazenamento prolongado (OLIVEIRA-FONSECA, 2003).

Uma das alternativas ao uso da fosfina como fumigante é o uso do dióxido de carbono em atmosferas controladas e em atmosferas modificadas. As vantagens são que o gás utilizado, dióxido de carbono, é não-inflamável, não-corrosivo, não-poluente e não deprecia o valor comercial do produto fumigado (GONÇALVES *et al.*, 2000). Mesmo utilizado durante longo período, é pouco provável que o CO<sub>2</sub> afete a qualidade dos grãos armazenados sob atmosfera controlada (BANKS, 1984; BOND e MILLER, 1988). Ainda não se tem respostas concretas do vigor e da germinação de sementes de milho armazenadas em atmosfera modificada com dióxido de carbono.

A atmosfera controlada (AC), isto é, quando se exerce um controle sobre a composição química dos gases e sobre as condições físicas, como pressão, temperatura e umidade, tem sido usada com sucesso no controle de *Sitophilus granarius* (L.) e/ou *Sitophilus zeamais* (Mots.) (GUEDES *et al.*, 1996; ADLER, 1992; PROZELL e REICHMUTH, 1990). A atmosfera modificada (AM), empregando CO<sub>2</sub>, já é bem conhecida por ser largamente utilizada na desinfestação de grãos cereais, na agricultura e no acondicionamento, para a conservação, de produtos da indústria alimentícia (REMÉDIO, 2002). Em altas concentrações, o CO<sub>2</sub> é tóxico para os insetos, particularmente para as pragas de grãos armazenados (ANNIS e MORTON, 1997; WHITE *et al.*, 1997). Muitos autores desenvolveram trabalhos com expurgo de CO<sub>2</sub> em grãos e alimentos (LINDGREN e VINCENT, 1970; CALDERÓN e NAVARRO, 1980; ANNIS e GRAVER, 1990; WHITE e JAYAS, 1991; ADLER, 1994; MUELLER, 1994; REN *et al.*, 1994; LEONG e HO, 1995; SANTOS, 1995; MBATA e REICHMUTH, 1996; MITCHAM *et al.*, 1997; CASELLA, 1998; MARTINAZZO, 1998; COELHO *et al.*, 2000; SANTOS, 2003), mas poucos são os trabalhos com expurgo em sementes com verificação dos efeitos sobre a germinação e vigor (SARY *et al.*, 1993).

### 2.8.1 Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)

É um gás incolor, inodoro e levemente ácido. O dióxido de carbono pode ser produzido por meio da queima completa de matéria orgânica como óleos combustíveis, carvão, gás natural, casca de coco, cavacos de madeira, etc. Neste processo, os gases da

combustão contêm, além do CO<sub>2</sub>, vapor d'água, oxigênio, nitrogênio, monóxido de carbono e compostos de enxofre, que podem estar contidos na matéria prima. O CO<sub>2</sub> é separado destes outros gases, purificado, comprimido e liquefeito para sua comercialização. No entanto, a forma mais econômica de se obter o CO<sub>2</sub> é recuperá-lo por meio de uma grande variedade de processos onde ele é subproduto. Este gás é acondicionado liquefeito em cilindros à pressão de vapor de 58,3 kgf/cm<sup>2</sup> man. e a 21°C (Anexo 1) (WHITE MARTINS, 2005).

#### 2.8.1.1 Processo de geração de CO<sub>2</sub>

Algumas fontes, de CO<sub>2</sub>, onde este é subproduto são:

- a. Gás de combustão de forno de cal;
- b. Subproduto da síntese de amônia;
- c. Fermentação na produção de cerveja e álcool;
- d. Gás de alto forno da indústria siderúrgica
- e. Subproduto da produção de hidrogênio
- f. Biogás
- g. Poços de gás carbônico.

Em alguns destes processos, como na fermentação e na produção de amônia, o gás carbônico tem pureza bem elevada, bastando sua purificação, compressão e liquefação. As etapas de geração e separação são eliminadas, obtendo-se com isto uma redução substancial do investimento em equipamentos, além da maior simplicidade de operação, o que se reflete no menor custo de produção do CO<sub>2</sub>. Já em gases de alto-forno e forno de cal, o CO<sub>2</sub> encontra-se em purezas intermediárias, isto é, superiores à do gás de queima de matéria orgânica, mas inferiores às dos processos acima citados. Nestes processos, elimina-se apenas a etapa de geração (WHITE MARTINS, 2005).

#### 2.8.1.2 Propriedades do dióxido de carbono

Uma propriedade físico-química relevante a ser considerada é a densidade do gás em relação à densidade do ar. Os gases mais densos que o ar (por exemplo, o dióxido de carbono) tendem a se acumular ao nível do solo e, conseqüentemente, terão sua dispersão dificultada quando comparada à dos gases com densidade próxima ou inferior à do ar

(WHITE MARTINS, 2005).

Alguns gases considerados biologicamente inertes, ou seja, não são metabolizados pelo organismo humano, sob certas condições podem representar riscos ao homem. Todos os gases, exceto o oxigênio, são asfixiantes. Grandes vazamentos, mesmo de gases inertes, reduzem o teor de oxigênio dos ambientes fechados, causando danos que podem culminar na morte das pessoas ou dos animais expostos (WHITE MARTINS, 2005).

### 2.8.2 Atmosfera controlada na estocagem (CAP)

A Atmosfera Controlada - CAP - é um sistema dinâmico, onde a composição da atmosfera que envolve o produto é monitorada e mantida constante sob condições específicas de temperatura e umidade relativa durante a estocagem e distribuição do produto. Comumente, aplica-se para armazenamento a granel de frutas e vegetais com produção sazonal, para promover uma oferta de produto durante um período de tempo maior. A aplicação é realizada em container de transporte ou câmara de conservação, onde a composição do gás e a umidade são mantidas constantes, controladas e monitoradas durante todo o período de estocagem. Estes parâmetros devem ser adequados ao tipo e estágio de maturação do produto que está sendo armazenado (WHITE MARTINS, 2005).

O princípio da atmosfera controlada é baseado na redução dos níveis de oxigênio ( $O_2$ ) e aumento dos níveis de dióxido de carbono ( $CO_2$ ), desta maneira, retardando a taxa de respiração do produto e conseqüentemente, o seu processo de envelhecimento e perda de qualidade (WHITE MARTINS, 2005).

Benefícios:

- a. Aumento da vida útil do produto;
- b. Retarda a deterioração da aparência, coloração, textura, aroma e qualidade nutricional;
- c. Reduz perdas no manuseio pós-colheita;
- d. Reduz perdas na distribuição e estocagem;
- e. Possibilita atingir mercados mais distantes, devido ao aumento da vida útil.

### 2.8.3 Atmosfera modificada para embalagens (MAP)

A atmosfera modificada é um sistema de acondicionamento no qual se modifica a

atmosfera ao redor do produto, e esta nova atmosfera se modifica durante a vida útil do mesmo devido à permeabilidade da embalagem e a respiração do produto (WHITE MARTINS, 2005).

Os gases utilizados na composição da nova atmosfera são: nitrogênio ( $N_2$ ), oxigênio ( $O_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ). A composição da mistura gasosa bem como a concentração dos gases utilizados é feita de acordo com o produto que será embalado (WHITE MARTINS, 2005).

A atmosfera modificada (MAP) já é largamente utilizada em diversos produtos como carnes vermelhas, frango, produtos de panificação, laticínios, frios fatiados, castanha de caju, amendoim, batata frita e vegetais minimamente processados (WHITE MARTINS, 2005).

Benefícios:

- a. Aumento da vida útil do produto (até 100%);
- b. Reduz ou elimina o uso de conservantes;
- c. Mantém o aroma, sabor e frescor do produto;
- d. Retarda o desenvolvimento microbiano;
- e. Propicia o desenvolvimento de novos mercados e a criação de centrais de abastecimento.



### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 LOCAL DOS TRABALHOS EXPERIMENTAIS

O experimento foi conduzido na Casa de Vegetação e no Laboratório de Análise e Tecnologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, no Setor de Ciências Agrárias, no Campus I da Universidade Federal do Paraná, Município de Curitiba, Estado do Paraná.

#### 3.2 ESPÉCIE UTILIZADA

A espécie utilizada foi o milho (*Zea mays* L.) variedade “Amarelinho” utilizada na Região de Castro (PR). Esta variedade de milho depois de colhida costuma-se, uma parte, armazenar em forma de silagem e destinar à alimentação animal na bovinocultura leiteira, e a outra parte armazenar como semente para semeadura na safra seguinte. O grão desta variedade tem como característica principal ser muito mole e ter alta infestação, quando armazenado, por *Sitophilus zeamais* (Mots.), pertencente à família *Curculionidae*.

#### 3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições por tratamento, em arranjo fatorial 4 x 5, sendo quatro concentrações de CO<sub>2</sub> (0%, 50%, 75% e 90%) e cinco períodos de exposição ao gás (0 dia, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias).

A Tabela 1 caracteriza os tratamentos com as respectivas concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao gás utilizados.

TABELA 1 – Descrição dos tratamentos utilizados, concentrações de dióxido de carbono e períodos de exposição. Curitiba - PR, 2004.

<b>TRATAMENTOS</b>	<b>Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (%)</b>	<b>Períodos de exposição ao gás (dias)</b>
T1	0	0
T2	0	15
T3	0	30
T4	0	45
T5	0	60
T6	50	0
T7	50	15
T8	50	30
T9	50	45
T10	50	60
T11	75	0
T12	75	15
T13	75	30
T14	75	45
T15	75	60
T16	90	0
T17	90	15
T18	90	30
T19	90	45
T20	90	60

### 3.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no período de junho a dezembro de 2004.

A colheita das sementes foi realizada no Município de Castro – PR, no mês de maio de 2004, época em que foi realizada a secagem destas sementes. A secagem foi realizada no terreiro da mesma propriedade onde foi colhida.

Foram realizados os seguintes testes: umidade, peso de 1000 sementes, tetrazólio, germinação e índice de velocidade de emergência.

Inicialmente foi realizado o teste de umidade visando determinar o conteúdo de água

presente nas sementes a serem utilizadas no trabalho experimental. Para isso, utilizou-se o método de estufa, descrito pela RAS (Regras para Análise de Sementes) (BRASIL, 1992), com secagem em estufa com circulação de ar forçado a 105 °C por 24 horas (PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2004).

Foi determinado o peso de mil sementes conforme recomendações de Brasil (1992) pelo método de pesagem direta das amostras com mil sementes.

Todas as unidades experimentais receberam as mesmas quantidades de sementes e o mesmo volume de gás com diferentes concentrações de dióxido de carbono, com exceção da testemunha que não ficou exposta ao dióxido de carbono. Cada unidade experimental foi composta de 900 sementes de milho e uma embalagem.

As embalagens utilizadas foram as de alta barreira ao CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) e ao O<sub>2</sub> (oxigênio). Estas embalagens (*nylon*) mantêm o gás em seu interior por mais tempo que as embalagens de média barreira (polipropileno), possibilitando a exposição das sementes à determinada concentração de CO<sub>2</sub> por um período mais prolongado.

As embalagens possuíam a dimensão de 0,25 m x 0,17 m x 240 µm. As embalagens, o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e os equipamentos foram fornecidos pela White Martins S.A.

As sementes foram acondicionadas nas embalagens e em seguida, por meio do equipamento da marca SELOVAC 200 B (Figura 1), levadas à pressão negativa e depois às concentrações de 0, 50, 75 e 90% de CO<sub>2</sub> conforme cada tratamento. Este equipamento também tinha a função de selar a embalagem.



FIGURA 1 – Equipamento marca SELOVAC 200 B, que retira o ar, injeta dióxido de carbono e sela as embalagens, Curitiba – PR, 2004.

Após a selagem das embalagens, as concentrações de  $\text{CO}_2$  foram conferidas usando o equipamento da marca MOCON PAC CHECK (Figura 2), o qual analisava a porcentagem de  $\text{CO}_2$  e de  $\text{O}_2$ , na atmosfera, no interior da embalagem, para se certificar que estavam sob a concentração desejada de  $\text{CO}_2$ . As embalagens que não receberam  $\text{CO}_2$  ficaram sob efeito da atmosfera do ambiente do laboratório a  $20\text{ }^\circ\text{C}$ , 21,2% de  $\text{O}_2$  e 0,3% de  $\text{CO}_2$ .



FIGURA 2 – Aparelho analisador atmosférico utilizado para mensurar a concentração de oxigênio e dióxido de carbono no interior das embalagens, Curitiba – PR, 2004.

### 3.4.1 Avaliação

Os testes de germinação e de tetrazólio foram realizados de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 1992). O teste que indica o índice de velocidade de emergência foi realizado em conformidade com a literatura (BRASIL, 1967 *apud* POPINIGIS, 1985), a qual evidencia a relação da velocidade de emergência com o vigor da semente.

Para avaliar a germinação das sementes foi utilizado o teste de germinação e para avaliar o vigor das sementes foram utilizados os testes de tetrazólio e índice de velocidade de emergência.

#### 3.4.1.1 Germinação

O teste de germinação foi realizado para cada unidade experimental. Foram utilizadas 400 sementes, divididas em quatro repetições de 100 sementes e cada repetição foi composta de dois rolos de papel germitest, previamente umedecidos em água (contendo três folhas de papel), com 50 sementes cada um (PIÑA-RODRIGUES e VIEIRA, 1988; BRASIL, 1992). Em seguida os rolos de papel foram acondicionados em germinador e

mantidos sob temperatura de 25 °C por oito dias e após este período submetidos à avaliação, considerando-se apenas as plântulas normais.

Também foi utilizado o teste de tetrazólio para determinar o potencial de germinação. Este teste está descrito no item a seguir.

### 3.4.1.2 Vigor

#### 3.4.1.2.1 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio foi realizado para cada parcela. Este teste foi instalado em amostras de 100 sementes divididas em duas repetições de 50 sementes cada. Estas sementes foram pré-condicionadas, em rolos de papel germitest umedecido, por 24 h, à temperatura de 25 °C. Este procedimento visou permitir a embebição lenta das sementes de modo a estimular o processo de germinação e o preparo das mesmas. As sementes foram seccionadas longitudinalmente com o objetivo de facilitar o contato do sal de tetrazólio (2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio) com os tecidos destas, para formar o composto formazan, que apresenta coloração avermelhada (PIÑA-RODRIGUES e VALENTINI, 1995). Após esta fase de preparação as sementes foram imersas em sal de tetrazólio preparado a concentração de 0,075% e levadas a um germinador (no escuro) com temperatura de 25 °C, por seis horas, quando atingiam a coloração ideal para avaliação. Neste momento as sementes foram retiradas do germinador, lavadas em água corrente e imediatamente analisadas ou conservadas em refrigerador até sua avaliação (PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2004).

A interpretação dos resultados depende de padrões definidos como os apresentados por diversos autores (GRABE, 1976; LIBERAL, 1980; VIEIRA e CARVALHO, 1994; ISTA, 1999; KRYZANOWSKI *et al.*, 1999). Na avaliação do teste foram consideradas: (a) a coloração dos tecidos – sementes com vermelho-vivo e túrgidos brilhantes foram consideradas sadias; zonas das sementes de cor vermelha-intensa, escura, com tecidos com perda de turgescência e brilho representaram áreas em deterioração. Zonas não-coloridas significaram tecidos mortos; (b) a localização das manchas – a presença de danos (áreas não-coloridas ou de vermelho intenso) em zonas críticas das sementes, tais como radícula e eixo embrionário, foram avaliadas cuidadosamente, associada à sua extensão e à intensidade de coloração; (c) a presença de fraturas e turgência dos tecidos. Com base nesses parâmetros, as sementes foram classificadas em notas de um a oito, onde o

intervalo de um a três quantifica o vigor da semente, e o intervalo de um a cinco o potencial de germinação. O intervalo de seis a oito contém somente sementes mortas ou com danos severos no eixo embrionário, não permitindo a germinação normal da semente.

#### 3.4.1.2.2 Índice de velocidade de emergência (IVE)

Foram observadas, cuidadosamente, a padronização e uniformidade da unidade experimental a ser avaliada para que fatores como o tamanho das sementes, sanidade e, principalmente, condições de germinação (água, luz e substrato) não fossem fontes de variação dentro do teste, além das inerentes ao próprio vigor (VALENTINI e PIÑA-RODRIGUES, 1995).

Para a obtenção do índice de velocidade de emergência foram utilizadas 400 sementes, para cada unidade experimental, divididas em quatro repetições de 100 sementes cada (Figura 3). As sementes foram levadas à casa de vegetação (temperatura média do ar de  $27,5 \pm 0,2$  °C e umidade relativa média do ar de  $73,8 \pm 0,5$  %) e semeadas em caixas de madeira, com dimensão de 1,20 m x 2,00 m x 0,10 m, forradas com lâminas de polietileno de cor preta e preenchidas com substrato areia fina peneirada (este teste não foi realizado a campo devido ao clima, na época do experimento, sujeito a baixa temperatura e geadas). A semeadura destas sementes foi realizada em sulcos feitos por meio de uma régua, com o objetivo de deixar todas as sementes à profundidade de 5 cm. A irrigação era periodicamente realizada para manter umedecida a areia. As parcelas foram examinadas diariamente à mesma hora e a contagem realizada a partir do dia em que ocorreu a emergência da primeira plântula. Depois de contabilizadas as plântulas foram retiradas do substrato. Somente plântulas que atingiam o comprimento de 3 cm passavam a ser contabilizadas. A contagem terminou no 11<sup>o</sup> dia, embora o experimento tenha ficado em observação até o 14<sup>o</sup> dia.

O índice de velocidade de emergência (IVE) resultou da multiplicação do número de plântulas normais, obtidas em cada dia pelo inverso do número de dias após o início do teste e, a seguir, os valores obtidos foram somados para a obtenção do IVE (POPINIGIS, 1985; VIEIRA e CARVALHO, 1994).



FIGURA 3 – Determinação do índice de velocidade de emergência, Curitiba – PR, 2004.

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância e foram ajustadas equações de regressão com o software SANEST. As curvas de regressão foram realizadas com o software Excel.



## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 TEOR DE UMIDADE E PESO DE MIL SEMENTES**

O lote de sementes analisado apresentou teor de umidade igual a 15,1% e o peso de 1000 sementes resultou em 380 g.

### **4.2 GERMINAÇÃO**

A relação entre a germinação das sementes e as concentrações de CO<sub>2</sub> está expressa nas Figuras 4 e 5.

Teoricamente, a resposta do teste de germinação e do teste de tetrazólio frente às concentrações de CO<sub>2</sub>, deveria ser semelhante em todos os aspectos, considerando-se tratarem de testes de viabilidade ou porcentagem de germinação (SCHMIDT, 2000). Entretanto, cabe aqui mencionar que o teste de germinação, diferentemente do teste de tetrazólio, pode ser influenciado por interferências externas como a presença de fungos, prejudiciais na germinação, o que ocorrerá em um resultado não favorável ao verdadeiro potencial germinativo (FRANÇA NETO, 1994). Tal situação foi presenciada em algumas ocasiões, embora tenha sido realizado em condições de laboratório. Estas interferências externas causaram subestimação dos resultados do teste de germinação. No Anexo 12, referente ao teste de germinação, é possível observar que os períodos de exposição 30 e 60 dias foram os mais afetados pela contaminação fúngica.

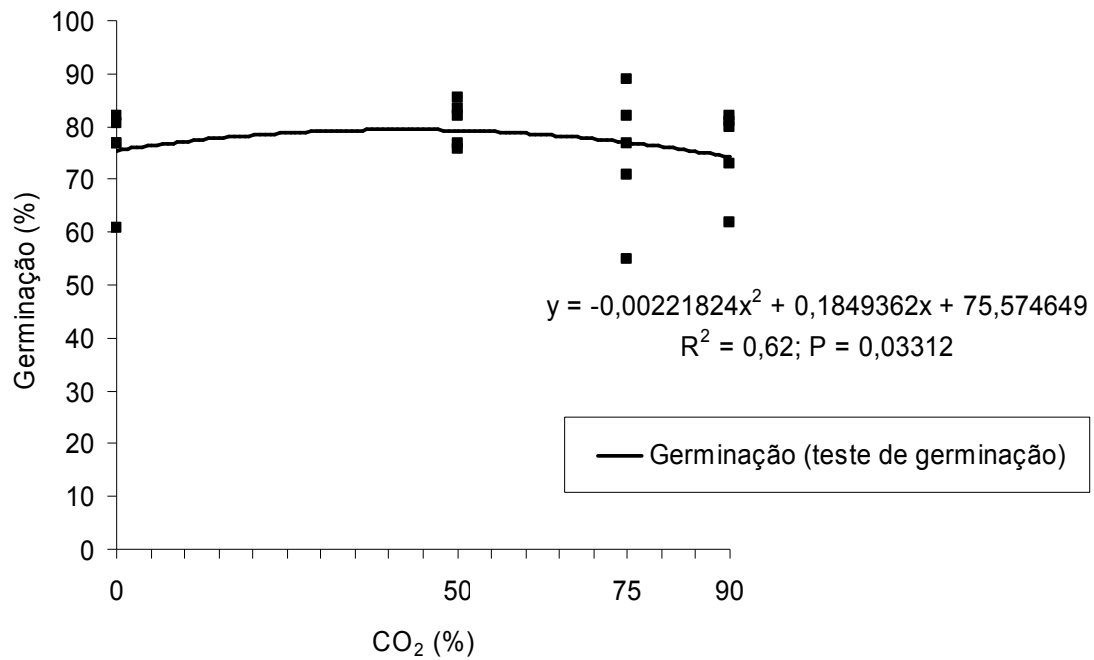


FIGURA 4 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação nas concentrações de CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

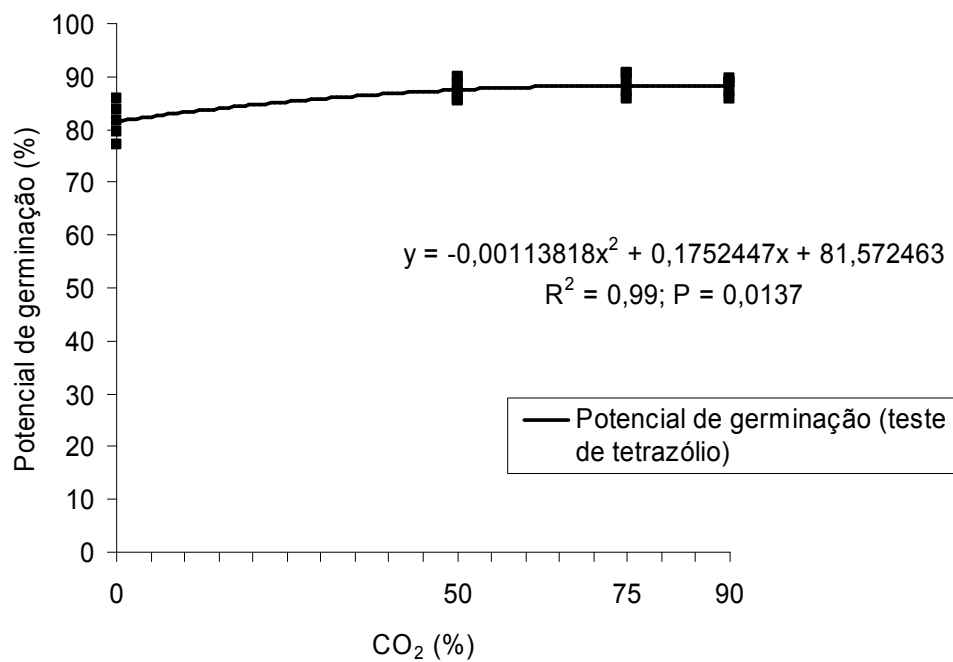
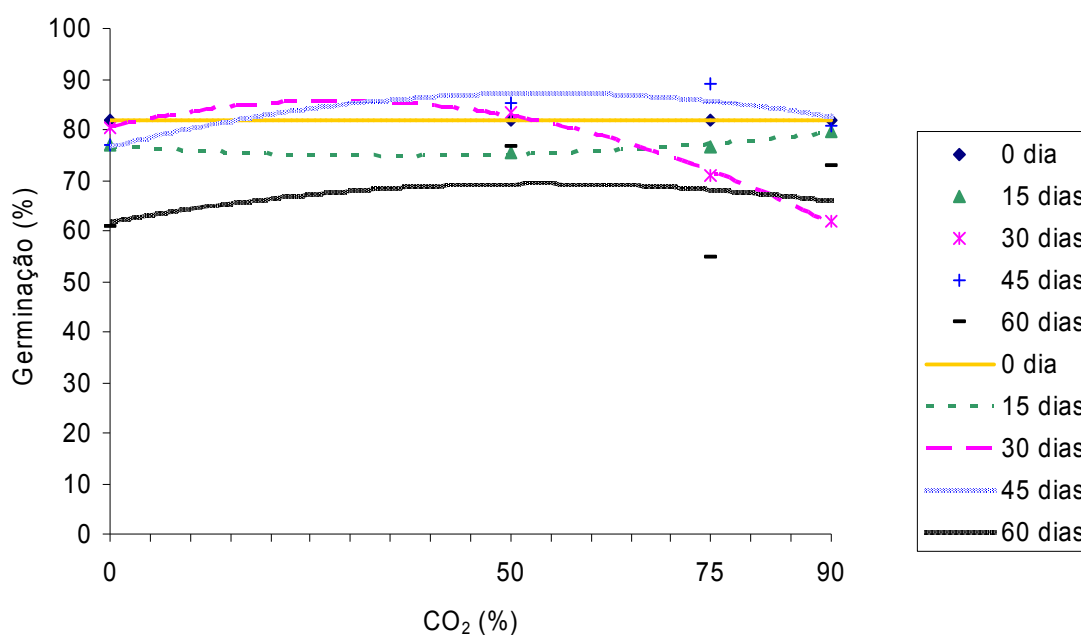


FIGURA 5 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio nas concentrações de CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

A análise de variância mostrou que os resultados referentes à germinação tiveram diferença significativa para as concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) no teste de tetrazólio (Anexo 5), mas no teste de germinação não houve diferença estatística significativa (Anexo 4).

No teste de germinação as sementes expostas à concentração de 50% de CO<sub>2</sub>, foram as que apresentaram maior porcentagem de germinação e as sementes expostas à concentração de 90%, foram as que mostraram menor porcentagem de germinação, provavelmente, em razão da contaminação que ocorreu (Figura 4). Para o teste de tetrazólio a maior porcentagem do potencial de germinação ocorreu com 75% de concentração de CO<sub>2</sub> e a menor com o tratamento sem CO<sub>2</sub> (Figura 5).

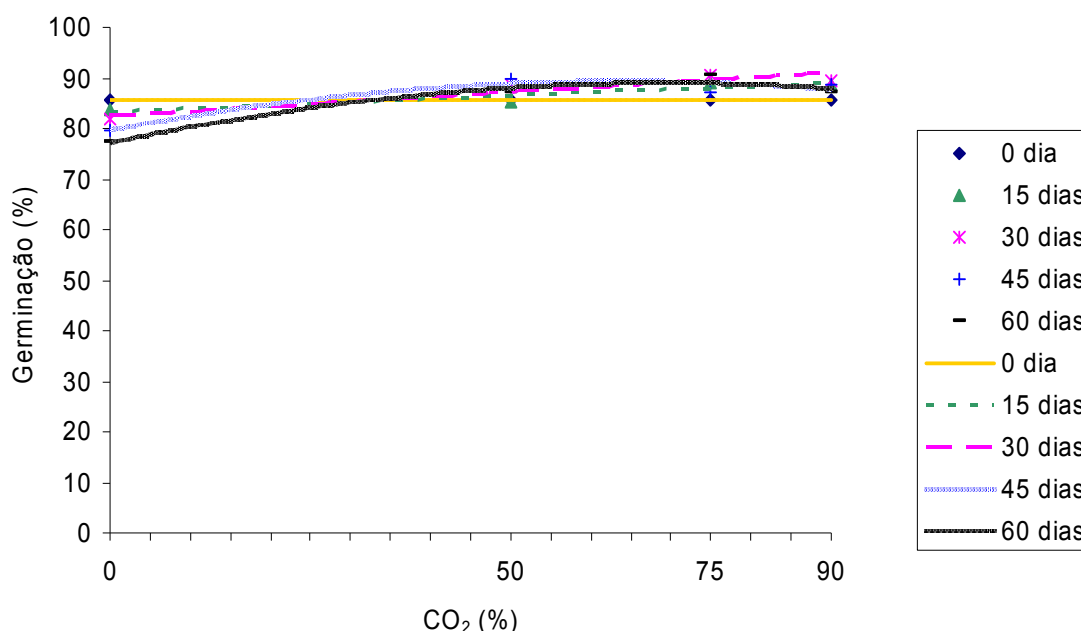
Analisando, separadamente, cada período de exposição para as concentrações de CO<sub>2</sub> (Figura 6), observa-se pelo teste de germinação, que somente no período igual a 30 dias



[15 dias]  $y = 0,00152966 x^2 - 0,1099444x + 76,871684$ ;  $R^2 = 0,93$ ;  $P = 0,51596$   
 [30 dias]  $y = 0,00639655 x^2 - 0,3625832x + 80,622785$ ;  $R^2 = 0,99$ ;  $P = 0,00727$   
 [45 dias]  $y = -0,00363217x^2 + 0,3935243x + 76,571670$ ;  $R^2 = 0,79$ ;  $P = 0,11600$   
 [60 dias]  $y = -0,00259266x^2 + 0,2785931x + 61,777114$ ;  $R^2 = 0,10$ ;  $P = 0,26364$

FIGURA 6 – Porcentagem de germinação obtida, por meio do teste de germinação, para as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e períodos de exposição ao gás. Curitiba – PR, 2004.

houve diferença significativa, apontando a maior porcentagem de germinação para a concentração de 50% de CO<sub>2</sub>. No período de exposição igual a 30 dias, ocorreu a contaminação nos tratamentos com 75 e 90% de concentração de CO<sub>2</sub> (Anexo 12). No Anexo 12 pode-se observar que no período de exposição igual a 60 dias também ocorreu contaminação nos tratamentos com 75 e 90% de concentração de CO<sub>2</sub>. No período de 45 de exposição apenas ocorreu contaminação no tratamento com 90% de concentração do gás.



[15 dias]  $y = 0,0615127x + 83,381191$ ;  $R^2 = 0,87$ ;  $P = 0,01432$   
 [30 dias]  $y = 0,0957162x + 82,480254$ ;  $R^2 = 0,88$ ;  $P = 0,00048$   
 [45 dias]  $y = -0,00236699x^2 + 0,3022351x + 79,668481$ ;  $R^2 = 0,90$ ;  $P = 0,02104$   
 [60 dias]  $y = -0,00245237x^2 + 0,3414126x + 77,096489$ ;  $R^2 = 0,95$ ;  $P = 0,00003$

FIGURA 7 – Porcentagem do potencial de germinação obtida, por meio do teste de tetrazólio, para as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e exposições ao gás. Curitiba – PR, 2004.

Para o potencial de germinação (teste de tetrazólio), analisando separadamente cada período de exposição, nota-se que, somente no tratamento com o período de exposição igual à zero, não houve diferença significativa. No período de exposição de 15 dias, o melhor tratamento foi com 75% de concentração de CO<sub>2</sub> (89%), enquanto que o tratamento com menor potencial de germinação foi o que não recebeu dióxido de carbono (84%) (Figura 7, Anexos 9 e 13). Os tratamentos com período de exposição de 30 dias tiveram a menor porcentagem do potencial de germinação com o tratamento sem dióxido de

carbono (82%) e a maior porcentagem com o tratamento com 75% de concentração de CO<sub>2</sub> (91%) (Figura 7, Anexos 9 e 13). Os tratamentos com período de exposição igual a 45 dias (Figura 7) apresentaram menor porcentagem do potencial de germinação quando na ausência de CO<sub>2</sub> (80%), enquanto que o melhor tratamento foi com 50% de concentração de CO<sub>2</sub> (90%). No período de exposição de 60 dias (Figura 7, Anexos 9 e 13), o tratamento que apresentou menor potencial de germinação foi o sem dióxido de carbono (78%) e o melhor tratamento foi o com 75% de concentração do gás, o qual apresentou 91% do potencial de germinação (Figura 7, Anexos 9 e 13).

A relação entre a germinação das sementes e os períodos de exposição ao CO<sub>2</sub> está expressa nas Figuras 8 e 9.

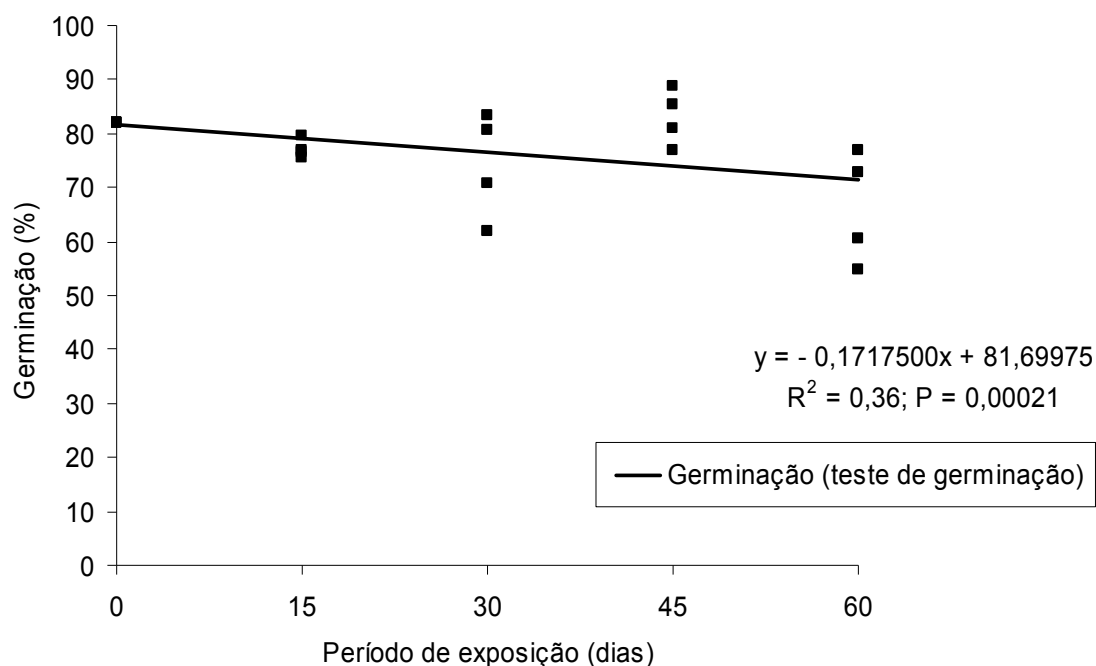


FIGURA 8 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação nos diferentes períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

Os resultados da porcentagem de germinação tiveram diferença significativa para o período de exposição ao dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) no teste de germinação (Figura 8 e Anexo 4) e no teste de tetrazólio não houve diferença estatística significativa para o período de exposição (Figura 9 e Anexo 5). Pode-se observar que houve diferença significativa, no teste de germinação e no teste de tetrazólio, para a interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e os períodos de exposição (Anexo 4 e Anexo 5).

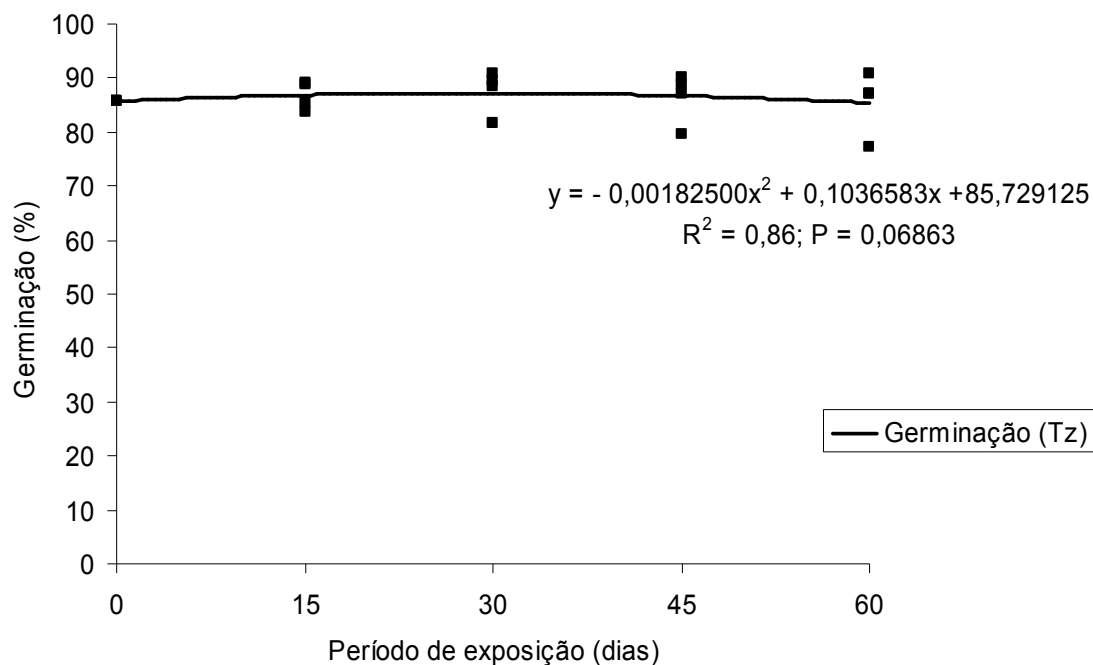
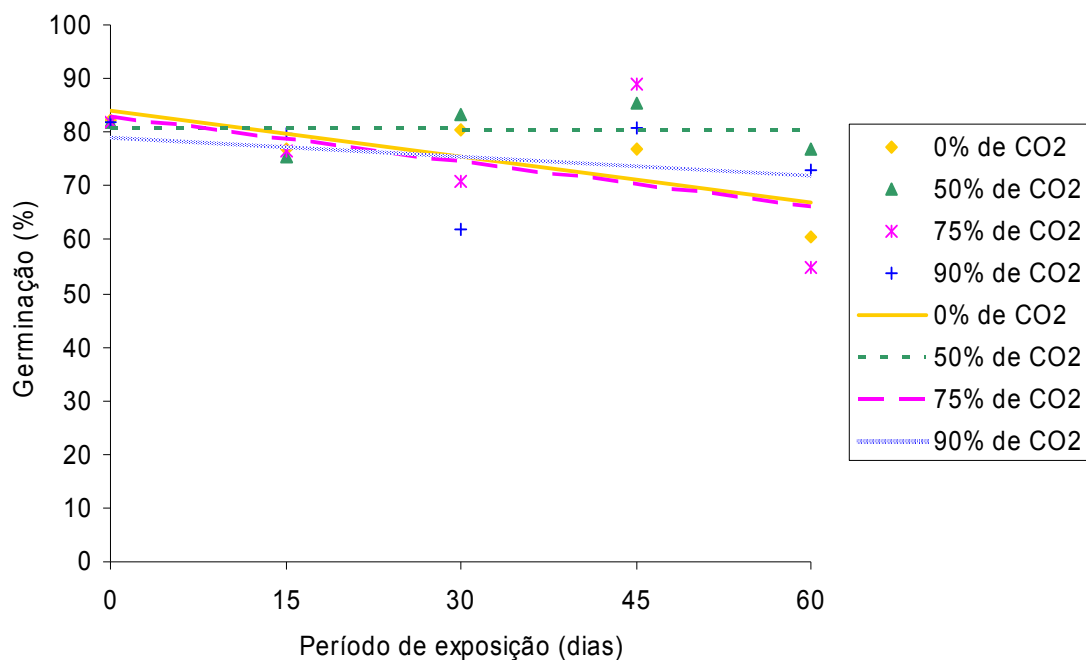


FIGURA 9 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz) nos diferentes períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

O teste de germinação apontou queda na porcentagem de germinação com o aumento do período de exposição às concentrações de CO<sub>2</sub>, como mostra a Figura 8. O teste de germinação indica que para o período de 60 dias de exposição ao CO<sub>2</sub>, as sementes apresentam a menor porcentagem de germinação (Figura 8). Isto resultou devido à contaminação ocorrida durante o teste de germinação.

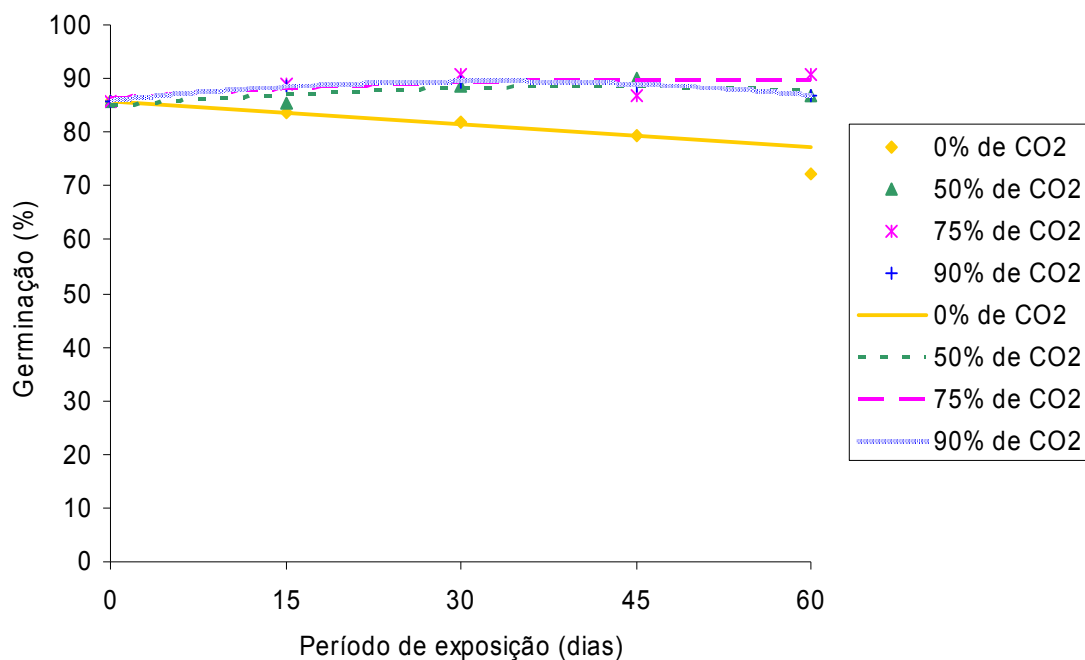
Quando analisado separadamente, observa-se que no teste de germinação (Figura 10) somente os tratamentos sem CO<sub>2</sub> e com 75% de concentração de CO<sub>2</sub> resultaram significativos estatisticamente. O tratamento sem CO<sub>2</sub> no período de 60 dias foi o que obteve a pior porcentagem de germinação (61% de germinação) e a melhor porcentagem de germinação com zero dia de exposição (82%).



[0% de CO2]  $y = -0,2846667x + 83,921000$ ;  $R^2 = 0,63$ ;  $P = 0,00115$   
 [50% de CO2]  $y = -0,0056667x + 80,752999$ ;  $R^2 = 0,00$ ;  $P = 0,94259$   
 [75% de CO2]  $y = -0,2812333x + 83,080500$ ;  $R^2 = 0,26$ ;  $P = 0,00128$   
 [90% de CO2]  $y = -0,1154333x + 78,924501$ ;  $R^2 = 0,11$ ;  $P = 0,15432$

FIGURA 10 – Porcentagem de germinação obtida, por meio do teste de germinação, para os diferentes períodos de exposição ao CO<sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.

O tratamento com 75% de concentração apresentou um comportamento similar ao tratamento sem dióxido de carbono e o melhor tratamento nesta concentração de CO<sub>2</sub> foi o com 45 dias de exposição ao gás (89%), enquanto que o pior tratamento foi com 60 dias de exposição (55%) independente da concentração de CO<sub>2</sub> (Figura 10, Anexo 8 e 12).



[0% de CO<sub>2</sub>]  $y = -0,1417000x + 85,851500$ ; R<sup>2</sup> = 0,99; P = 0,00038  
 [50% de CO<sub>2</sub>]  $y = -0,00214286x^2 + 0,1769048x + 84,885714$ ; R<sup>2</sup> = 0,55; P = 0,28664  
 [75% de CO<sub>2</sub>]  $y = -0,00142857x^2 + 0,1390476x + 86,407143$ ; R<sup>2</sup> = 0,39; P = 0,51670  
 [90% de CO<sub>2</sub>]  $y = -0,00349206x^2 + 0,2261905x + 85,878571$ ; R<sup>2</sup> = 0,98; P = 0,08126

FIGURA 11 – Porcentagem do potencial de germinação obtida, por meio do teste de tetrazólio, para os diferentes períodos de exposição ao CO<sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.

Quando analisadas separadamente as concentrações de CO<sub>2</sub>, nos períodos de exposição ao gás, o teste de tetrazólio apresentou resultado significativo estatisticamente somente para os tratamentos sem CO<sub>2</sub> (Figura 11). O tratamento sem CO<sub>2</sub> no período de 60 dias foi o que obteve a menor porcentagem do potencial de germinação (77%) e a maior porcentagem com zero dia de exposição (86%) (Figura 11, Anexos 9 e 13). Já eram esperados esses resultados para esses tratamentos, pois se sabe que a semente perde seu poder germinativo ao longo do tempo (POPINIGIS, 1985; CARVALHO E NAKAGAWA, 2000; FERREIRA E BORGHETTI, 2004), principalmente quando conservadas em atmosferas não modificadas. De acordo com os resultados obtidos por Razera *et al.* (1986), a porcentagem de germinação de sementes de milho diminuiu significativamente com o aumento do tempo de armazenagem. Este comportamento se verificou da mesma forma, no teste de germinação (Figura 10), para as sementes dos tratamentos sem dióxido de carbono. No teste de tetrazólio, os tratamentos com dióxido de carbono não tiveram diferença



estatisticamente significativa, mas apontaram claramente uma tendência de manter a porcentagem de germinação no período de exposição (Figura 11, Anexos 9 e 13).

#### 4.3 VIGOR

Este teste baseou-se no pressuposto que sementes mais vigorosas germinam mais rapidamente do que outras em condições inferiores (VIEIRA e CARVALHO, 1994; NAKAGAWA, 1999). Com isso, mesmo sementes com igual germinabilidade puderam apresentar velocidades distintas de emergência em função do seu vigor.

A relação entre o vigor das sementes e as concentrações de CO<sub>2</sub> está expressa na Figura 12 e 13.

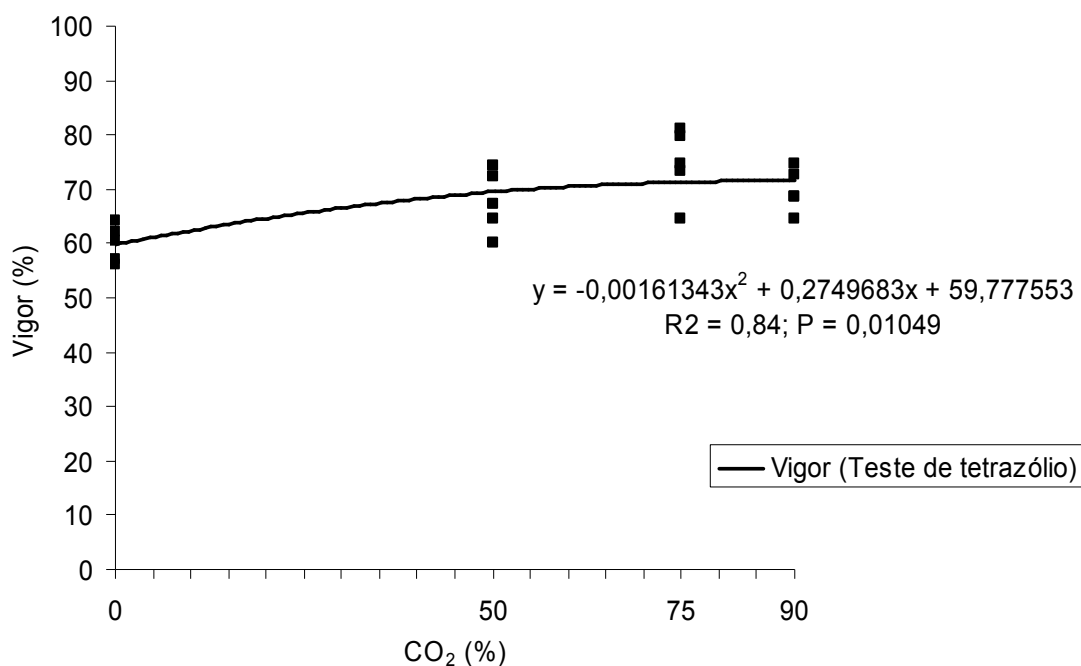


FIGURA 12 – Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio nas concentrações de CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

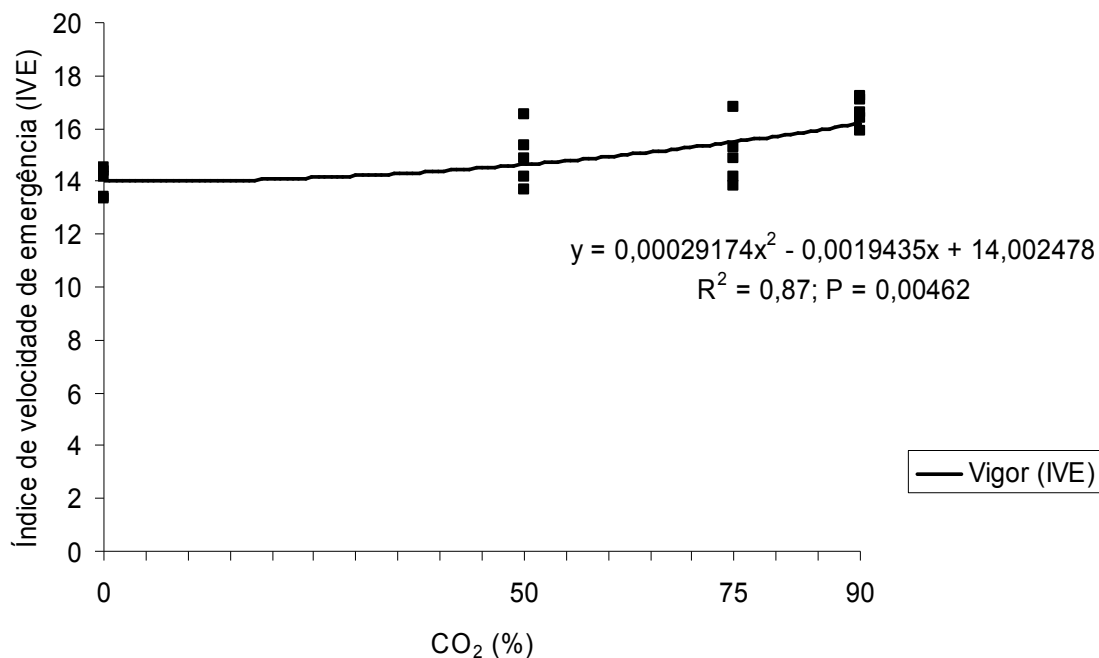
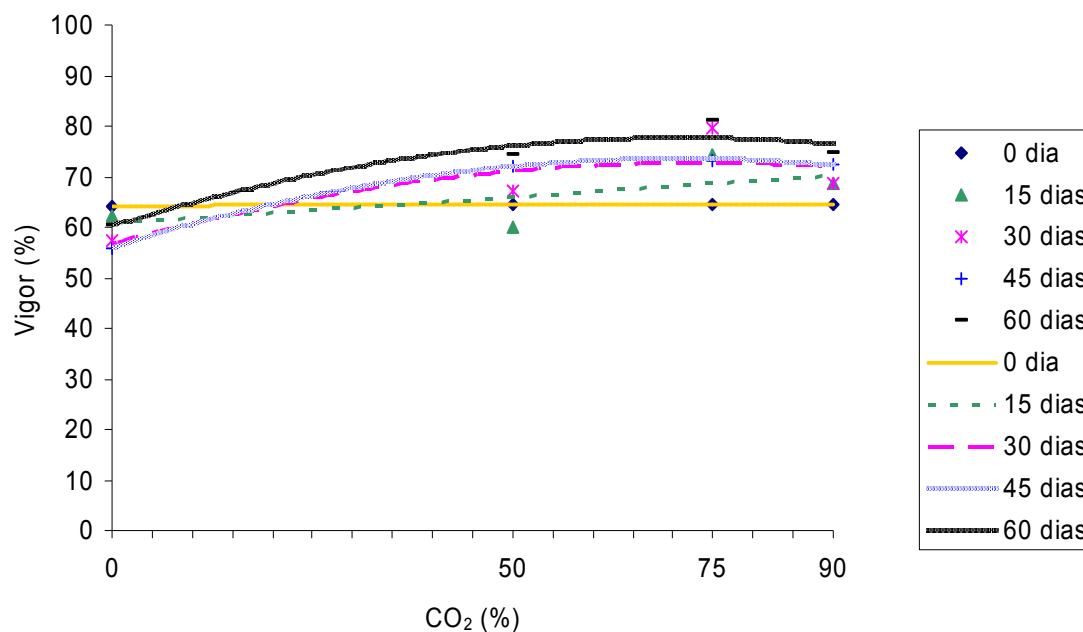


FIGURA 13 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência (IVE), para as concentrações de CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

Os resultados do vigor apresentaram diferença estatisticamente significativa para as concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Anexo 2 e 3). Tanto o teste de tetrazólio (Tz) quanto o índice de velocidade de emergência (IVE) mostraram maior vigor para as sementes expostas às maiores concentrações de CO<sub>2</sub>, e menor vigor para as sementes expostas às menores concentrações do gás, formando uma escala crescente de vigor em relação ao aumento da concentração de dióxido de carbono. Porém, dentro de cada teste (Tz e IVE) foram observados comportamentos diferentes nas concentrações estudadas. No Tz com zero dia de exposição não houve diferença significativa para as concentrações de CO<sub>2</sub> e este resultado foi confirmado pelo IVE, que também apresentou valores semelhantes, entre as concentrações de CO<sub>2</sub> (Anexo 7). Para 15 dias (Figura 14 e 15) de exposição ao gás observa-se uma tendência de maior vigor para a concentração de 90% e menor vigor para o tratamento sem gás. Este resultado foi apontado pela análise de regressão para os dois testes de vigor (Tz; IVE), embora nos dados observados no Tz o menor vigor tenha sido na concentração de 50% de CO<sub>2</sub> (60%) e o maior vigor na concentração de 75% de CO<sub>2</sub> (74,5%). No Tz, para as exposições de 30, 45 e 60 dias, houve um comportamento semelhante das sementes quanto ao vigor (Figura 14). Nestas três exposições o menor vigor foi para os tratamentos sem o gás (57,25, 56 e 60,5% respectivamente) e o melhor

vigor ocorreu nas concentrações de 75% de CO<sub>2</sub> (79,75, 73,25 e 81% respectivamente), mostrando pequeno decréscimo no vigor para as concentrações de 90% de CO<sub>2</sub> (Anexo 6).



[15 dias]  $y = 0,1060910x + 60,610107$ ;  $R^2 = 0,41$ ;  $P = 0,0027$   
 [30 dias]  $y = -0,00294638x^2 + 0,43665474x + 56,674333$ ;  $R^2 = 0,70$ ;  $P = 0,0336$   
 [45 dias]  $y = -0,00349456x^2 + 0,4958053x + 56,025313$ ;  $R^2 = 0,99$ ;  $P = 0,01285$   
 [60 dias]  $y = -0,00343640x^2 + 0,4901052x + 60,220740$ ;  $R^2 = 0,92$ ;  $P = 0,01426$

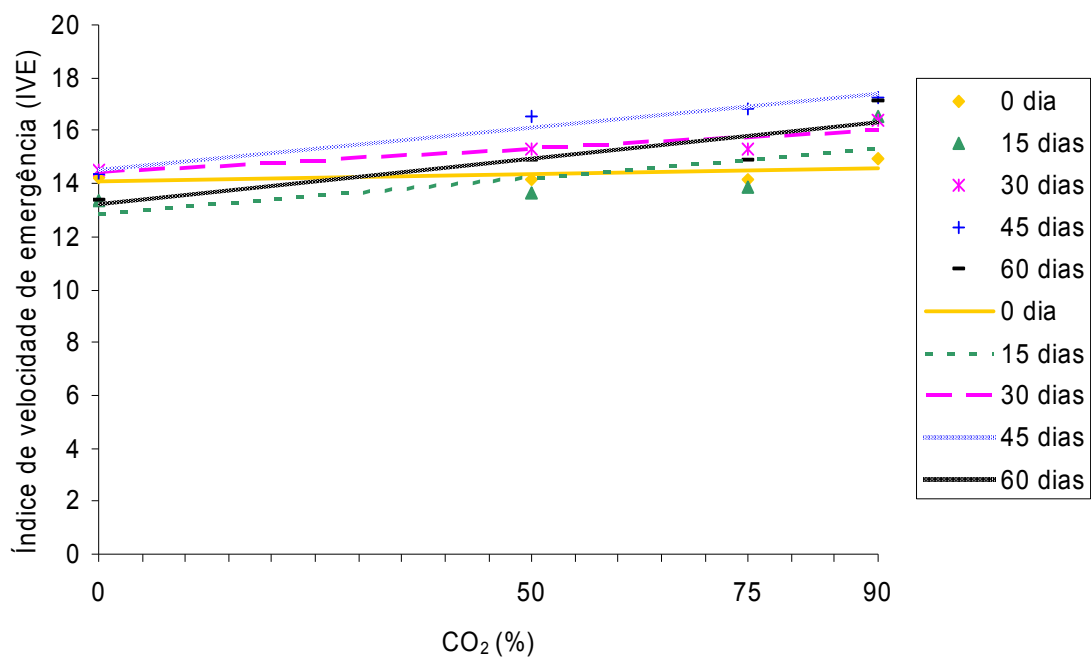
FIGURA 14 – Porcentagem de vigor obtida, por meio do teste de tetrazólio, para as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e exposições ao gás. Curitiba – PR, 2004.

Isto indica que concentrações acima de 75% de CO<sub>2</sub> com exposições de 15 dias ou mais, podem prejudicar o vigor da semente de milho, como observado nos resultados do Tz (Anexo 10). Este resultado enfatiza a importância da concentração do CO<sub>2</sub>, a qual pode prejudicar o vigor das sementes de milho, caso estas sejam expostas ao gás por um período e concentração de CO<sub>2</sub> incorretos. Mussi (2005) concluiu em seu trabalho, com sementes de girassol expostas ao dióxido de carbono, que o período de exposição não pode ultrapassar 10 dias, independentemente da concentração do dióxido de carbono.

A testemunha (sem dióxido de carbono) ficou em embalagens abertas, em presença do oxigênio presente no ambiente do laboratório (21,2%), e isto provavelmente prejudicou o resultado referente ao vigor e germinação das sementes destas unidades experimentais, tal como apresentado por Thapliyal *et al.* (1991) em seu trabalho com sementes de *Bambusa tulda*.

Observa-se na Figura 14 que o Tz mostrou que o vigor das sementes expostas ao gás por um período de 60 dias, foi superior às outras exposições em todas as concentrações estudadas, com exceção do tratamento sem o gás (Anexo 6). O menor vigor ocorreu no período de 45 dias sem exposição ao gás; também em todas as concentrações estudadas, o menor vigor foi com a ausência de CO<sub>2</sub>, com exceção do período de 15 dias onde o menor vigor ocorreu com a concentração de 50%. Estes resultados são confirmados por Willan (1985) que afirmou que sementes sob atmosfera com baixa concentração de oxigênio têm sua qualidade prolongada. Bewley e Black (1994) explicam que quando as sementes são postas em uma atmosfera com ausência de oxigênio, o ATP é rapidamente usado. Devido à parada da oxidação terminal nas mitocôndrias, não há reposição de ATP. Provavelmente o consumo de ATP está relacionado com a concentração do CO<sub>2</sub> em que as sementes foram expostas. Pode ser que os diferentes resultados de vigor ao longo do tempo tenham sido conseqüências disto, retardando o envelhecimento da semente e mantendo o vigor e a porcentagem de germinação quando estas são expostas ao CO<sub>2</sub>.

O índice de velocidade de emergência (Figura 15 e Anexo 11) apontou que 45 dias de exposição ao gás foi melhor em todas as concentrações estudadas e o tratamento que apresentou menor IVE foi o de 15 dias de exposição ao gás. Para o período de 45 dias de exposição ao gás, o pior e o melhor tratamento foram, respectivamente, 0% (IVE = 14,35) e 90% (IVE = 17,24) de concentração de CO<sub>2</sub> (Figura 15 e Anexo 7). No período de 15 dias de exposição o tratamento com a ausência de dióxido de carbono foi o que apresentou o menor vigor (IVE = 13,33) e o tratamento com 90% de dióxido de carbono o melhor vigor neste período (IVE = 16,57) (Figura 15 e Anexos 7 e 11).



[15 dias]  $y = 0,0272102x + 12,887453$ ;  $R^2 = 0,52$ ;  $P = 0,00004$   
 [30 dias]  $y = 0,0172262x + 14,47159$ ;  $R^2 = 0,78$ ;  $P = 0,00248$   
 [45 dias]  $y = 0,0319163x + 14,518872$ ;  $R^2 = 0,95$ ;  $P = 0,00001$   
 [60 dias]  $y = 0,0343487x + 13,201881$ ;  $R^2 = 0,78$ ;  $P = 0,00001$

FIGURA 15 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência, para as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e períodos de exposição ao gás. Curitiba – PR, 2004.

A relação entre o vigor das sementes e o período de exposição ao CO<sub>2</sub> está expressa nas Figuras 16 e 17.

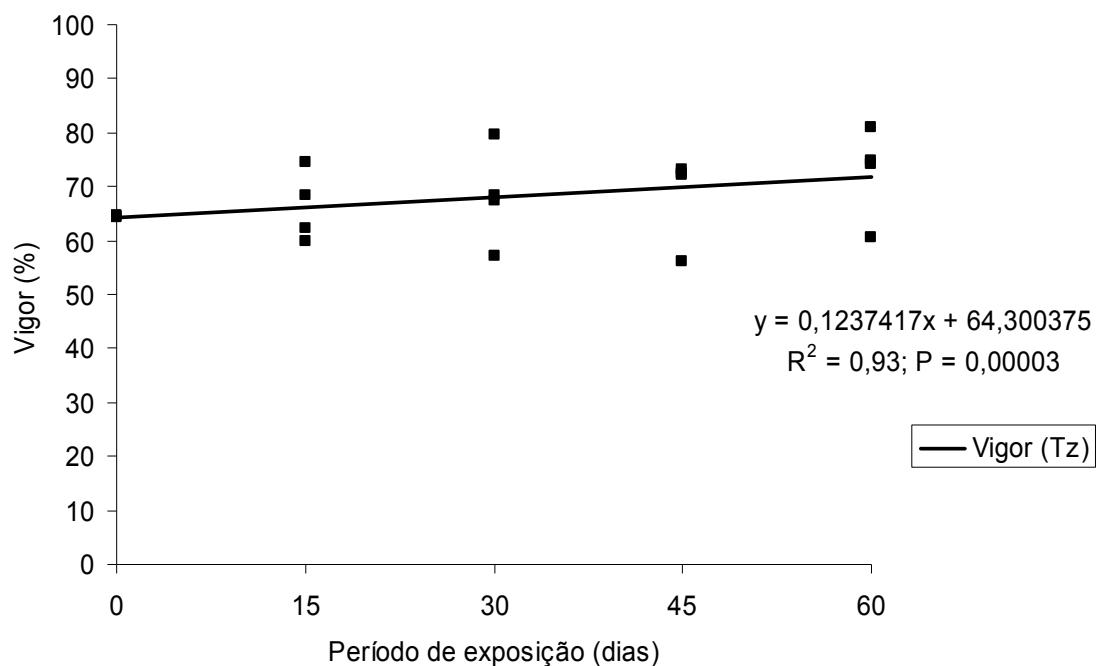


FIGURA 16 – Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz) nos períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

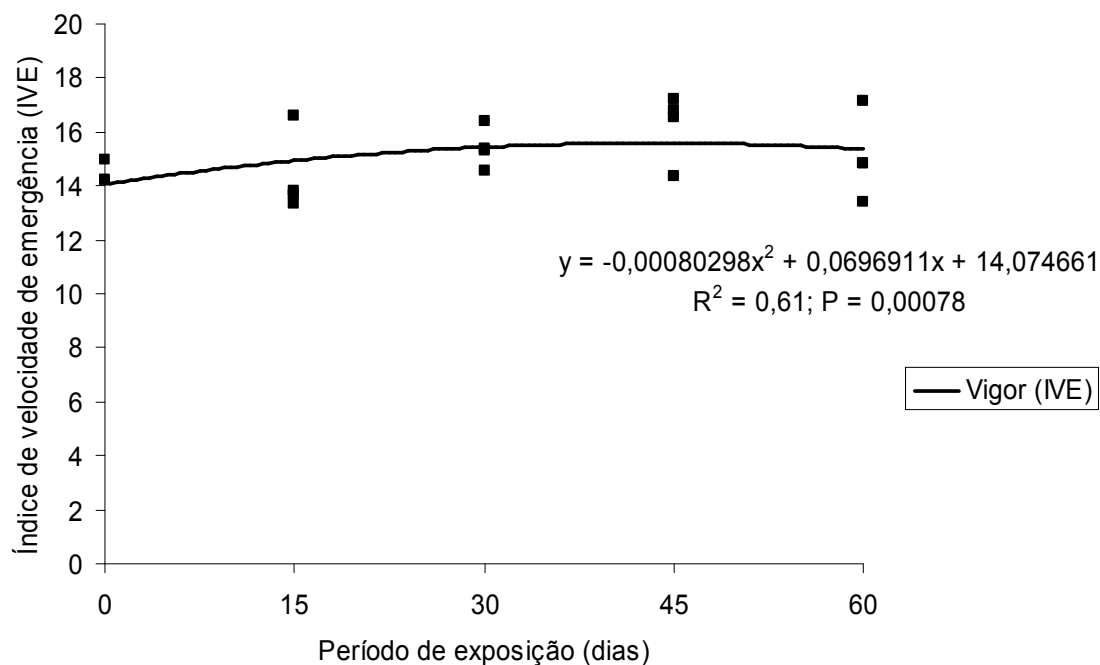
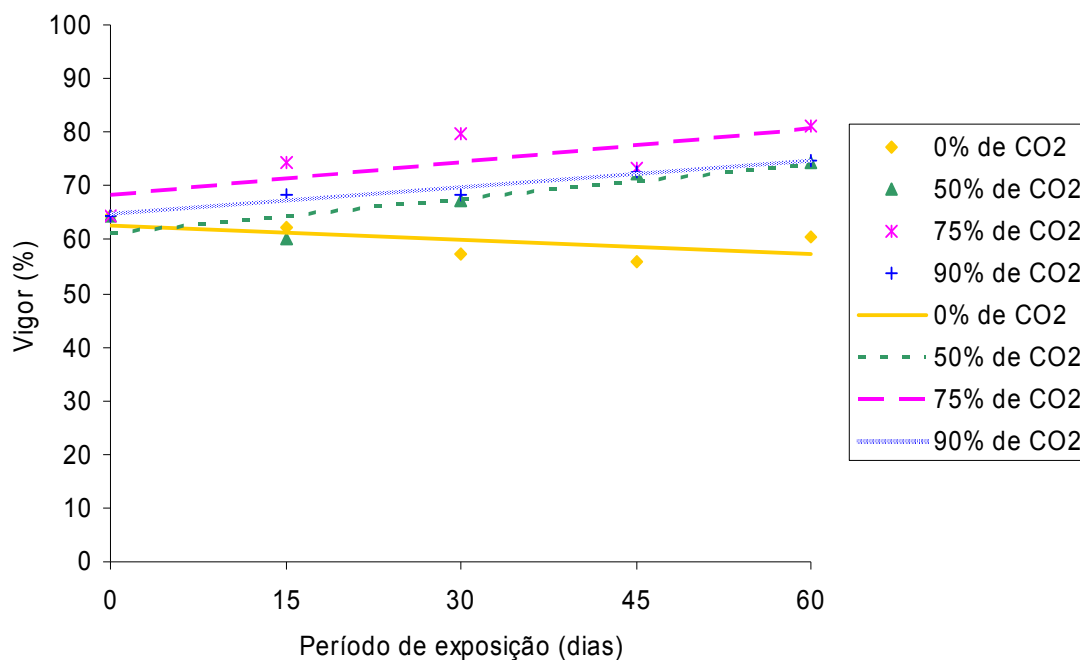


FIGURA 17 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência, nos períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

Os resultados do vigor tiveram diferença significativa para os períodos de exposição ao dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Anexo 2 e Anexo 3). Pode-se observar que houve também diferença significativa para a interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e os períodos de exposição (Anexo 2 e Anexo 3). O teste de tetrazólio (Tz) apontou o vigor crescente das sementes de milho com o aumento do período de exposição às concentrações de CO<sub>2</sub>, como mostra a Figura 16. O Tz indica que para o período de 60 dias de exposição ao CO<sub>2</sub>, as sementes apresentam o maior vigor e sem exposição ao CO<sub>2</sub> o menor vigor. O índice de velocidade de emergência (IVE) determinou o vigor de forma semelhante ao Tz, exceto para o período de 60 dias que mostrou tendência de queda do vigor (Figura 17).

Os tratamentos (testemunhas) que não estiveram em exposição ao CO<sub>2</sub> apresentaram queda no vigor ao longo do tempo, sendo que o menor vigor ocorreu para o período de 45 dias (56%) (Figura 18 e Anexo 6). Diferentemente da testemunha, os tratamentos com 50%, 75% e 90% de concentração de CO<sub>2</sub> tiveram um comportamento muito parecido entre si, quando comparados no decorrer do período de exposição, mostrando que sementes de milho puderam manter seu vigor no período estudado. Quando observado os períodos de exposição ao gás, os tratamentos com 75% de concentração de CO<sub>2</sub> foram os que obtiveram a maior porcentagem de vigor em todos os períodos, sendo que o melhor período foi o de 60 dias (81%). Estes resultados concordam com SCHMIDT (2000), que explica que as sementes ortodoxas mantidas com baixa concentração de oxigênio, conservadas em CO<sub>2</sub> ou vácuo, mostram atraso na sua deterioração.

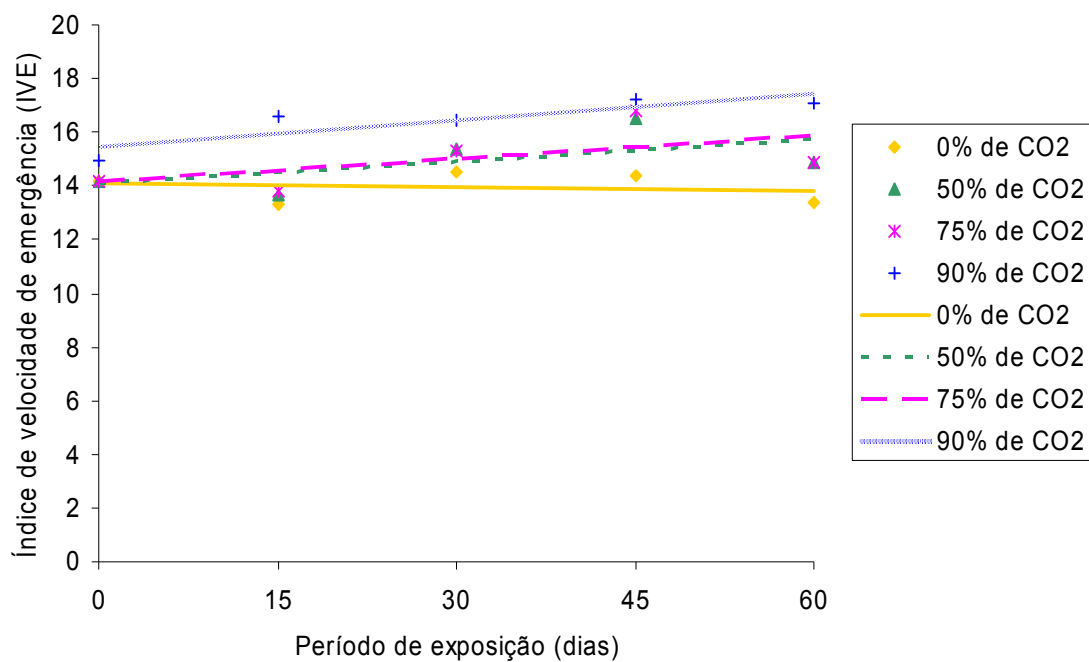


[0% de CO<sub>2</sub>]  $y = -0,0917000x + 62,801500$ ;  $R^2 = 0,40$ ;  $P = 0,00581$   
 [50% de CO<sub>2</sub>]  $y = 0,2116667x + 61,300000$ ;  $R^2 = 0,76$ ;  $P = 0,00016$   
 [75% de CO<sub>2</sub>]  $y = 0,2116667x + 68,250000$ ;  $R^2 = 0,59$ ;  $P = 0,00016$   
 [90% de CO<sub>2</sub>]  $y = 0,1633333x + 64,850000$ ;  $R^2 = 0,95$ ;  $P = 0,00158$

FIGURA 18 – Porcentagem de vigor obtida, por meio do teste de tetrazólio, para os diferentes períodos de exposição ao CO<sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.

O índice de velocidade de emergência (IVE) determinou o vigor e os resultados mostraram um comportamento similar ao observado com o teste de tetrazólio (Figura 19). Embora não tenha sido significativo estatisticamente para os tratamentos sem CO<sub>2</sub>, o IVE indicou que o vigor decresce ao longo do tempo quando as sementes não estão expostas às diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> (Figura 19), tal qual obtido, também pelo teste de tetrazólio. Foi determinado pelo índice de velocidade de emergência, que o tratamento em que as sementes apresentaram o maior vigor foi o tratamento com maior concentração de CO<sub>2</sub> (90%) e no maior período de exposição (60 dias) (IVE = 17,11), mas quando observado dentro de uma mesma concentração de CO<sub>2</sub> (50%, 75% ou 90%), o comportamento é o mesmo obtido pelo teste de tetrazólio mostrando que até 45 dias exposição ao CO<sub>2</sub>, maior é o vigor. Aos 60 dias apresenta queda do vigor nos dados observados (Anexos 7 e 11).





[0% de CO<sub>2</sub>]  $y = -0,0039500x + 14,079000$ ;  $R^2 = 0,03$ ;  $P = 0,61712$   
 [50% de CO<sub>2</sub>]  $y = 0,0279500x + 14,079500$ ;  $R^2 = 0,36$ ;  $P = 0,00093$   
 [75% de CO<sub>2</sub>]  $y = 0,0286167x + 14,135500$ ;  $R^2 = 0,34$ ;  $P = 0,00075$   
 [90% de CO<sub>2</sub>]  $y = 0,0334333x + 15,450000$ ;  $R^2 = 0,75$ ;  $P = 0,00018$

FIGURA 19 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência, para os diferentes períodos de exposição ao CO<sub>2</sub> e concentrações do gás. Curitiba – PR, 2004.

## **5 CONCLUSÕES**

Conclui-se que:

- a) As sementes de milho armazenadas por 60 dias sob atmosfera modificada com 75% de dióxido de carbono tiveram o melhor vigor e potencial de germinação;
- b) As sementes de milho armazenadas por 45 dias sob atmosfera modificada com 90% de dióxido de carbono tiveram o melhor vigor;
- c) As sementes de milho armazenadas por 45 dias sob atmosfera modificada com 75% de dióxido de carbono tiveram a melhor porcentagem germinação;
- d) A eficiência da atmosfera modificada com dióxido de carbono, na manutenção do vigor e germinação das sementes de milho, depende do tempo de exposição e das concentrações do gás.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Dos resultados obtidos neste trabalho e em base as suas conclusões, considera-se importante fazer algumas observações.

A idéia de utilizar o dióxido de carbono para modificar a atmosfera interna de embalagens, que contêm sementes de milho, está sedimentada em dois propósitos. O primeiro seria eliminar alguns organismos patógenos presentes nas sementes de variedades milho, como por exemplo, os insetos que atacam em ambientes de armazenamento. Para esse fim o período de exposição pode ser o suficiente para causar a morte dos insetos, em torno de 15 dias. O segundo seria a manutenção do vigor e da porcentagem de germinação da semente de milho, ao longo do tempo. Neste caso o período de exposição deverá ser igual ao tempo de armazenamento. Então, existe a necessidade de verificar como a semente de milho se comporta depois de um período de exposição ao dióxido de carbono, seja este curto ou mais prolongado.

Este trabalho mostrou que o dióxido de carbono não prejudicou o vigor e a germinação das sementes de milho em um período de 60 dias. Portanto, recomendam-se novas pesquisas, com o intuito de obter respostas sobre o vigor e germinação da semente de milho, para períodos maiores dos estudados neste trabalho. Persiste também, a dúvida se os tratamentos estudados interferem no estande e produtividade da cultura do milho. Espera-se que o presente trabalho suscite outros trabalhos na área com o interesse de aperfeiçoar este manejo de conservação de sementes.

## REFERÊNCIAS

- ADLER, C. Vertical dispersion of adult *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in a wheat column flushed with modified atmospheres. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.28, n.3, p. 201-209, 1992.
- ADLER, C. Carbon dioxide - more rapidly impairing the glycolytic energy production than nitrogen? In: INTERNACIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 6., 1994, Canberra. **Proceedings**. Canberra: CAB International, 1994. p. 7-15.
- AKAZAWA, T.; MIYATA, S. Biosynthesis and secretion of  $\alpha$ -amilase and other hydrolases in germinating seeds. **Essays in Biochemistry**, v.18, p. 40-78, 1982.
- ALDRICH, S. R.; SCOTT, W. O.; LENG, E. R. **Modern corn production**. 2.ed. Champaign: A & L, 1982. 371 p.
- AMEN, R. D. A model of seed dormancy. **The Botanical Review**, New York, v.34, p. 1-25, 1968.
- ANDREOLI, C.; ANDRADE, V. R. Qualidade de semente e densidade de semeadura afetam a emergência e produtividade de milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MILHO E SORGO, 22., Recife. Globalizacao e segurança alimentar: **resumos**. Recife: IPA, 1988. p. 54.
- ANDREOLI, C.; ANDRADE, V. R.; ZAMORA, S. A.; GORDON, M. Qualidade da semente e densidade de semeadura no estabelecimento e na produtividade do milho. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. Sete Lagoas: EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. 2002.
- ANNIS, P. C. Requeriments for fumigations and controlled atmospheres as options for pest and quality control in stored grain. In: CHAMP, B. R.; HIGHLEY, E.; BANKS, H. J. (Eds.) **Fumigation and controlled atmosphere storage of grain**. Singapore: ACIAR, 1990. p. 20-28. **Proceedings**, 25.
- ANNIS, P. C. Towards rational controlled atmosphere dosage schedules: a review of current knowledge. In: INTERNACIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 4., 1986, Tel Aviv. **Proceedings**: Tel Aviv, 1986.
- ANNIS, P. C.; GRAVER, J. van S. **Suggested recommendations for the fumigation of grain in ASEAN region**. Part 2. Carbon dioxide fumigation of bag-stacks sealed in plastic enclosures: an operations handbook. Kuala Lumpur: ASEAN Food Handling Bureau, 1990. 58p.
- ANNIS, P. C.; MORTON, R. The acute mortality effects of carbon dioxide on various life stages of *Sitophilus oryzae*. **Journal of Stored Products Research**. Kidlington, v.33, p. 115-124, 1997.
- AOSA, Association of Official Seed Analysts. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing, 1983. 88 p. (Contributon,32).
- ATSC. **Operation manual**. Austrália: Australian Tree Seed Centre, CSIRO, 1995.
- BANKS, H. J. Current methods and potential systems for production of controlled atmospheres for grain storage. In: RIPP, B. E., BANKS, H. J., BOND, E. J., CALVERLEY, D. J., JAY, E. G., NAVARRO, S. (Eds.) **Controlled atmosphere and fumigation in grain storages**: proceedings of an international symposium. Perth, 1984. p. 523-542.
- BARAN, M.; VENGLOVSKY, J.; VALOVCIK, J. Y.; JONOTIKOVA, I. Maize storage in controlled CO<sub>2</sub> atmosphere. **Polnohospodarstvo** (CSFR), v. 38(4) p. 249-256, 1993.
- BARRUETO, L. P.; PEREIRA, I. P.; NEVES, M. A. Influência da maturação fisiológica e do período entre a coleta e o início do armazenamento, sobre a viabilidade da semente de seringueira (*Hevea* spp.). **Turrialba**, v.36, n.1, p. 65-75, 1986.
- BARTOSIK, R. E.; RODRÍGUEZ J. C. Evaluación de una técnica de almacenaje de granos a

- 8,4% de humedad en bolsas plásticas – Sistema silobag. **Informe INTA-IPESA**, 1999.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. London: Academic Press, 1998. 666 p.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia**, v.12, p. 22-55, 2000. Edição especial.
- BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Ontario, v.9, p. 1055-1066, 1997.
- BEWLEY, J. D. e BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds, in relation to germination**. Berlim: Springer Verlag. v.1 e v.2, 1978.
- BEWLEY, J. D. e BLACK, M. **Seeds – Physiology of Development and Germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BOGLIACCINI, A. Almacenamiento hermético. **Revista Granos**, a.6, n.27, 2001.
- BOND, E. J.; MILLER, D. M. A new technique for measuring the combustibility of gases at reduced pressures and its application to the fumigant phosphine. **Journal of Stored Products Research**, v.24, p. 225-228, 1988.
- BRASIL, Ministério da Agricultura do. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SMDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BUCKERIDGE, M. S.; AIDAR, M. P. M.; SANTOS, H. P. dos; TINÉ, M. A. S. Acúmulo de reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 31-50.
- CALDERON, M.; NAVARRO, S. Synergistic effect of CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> mixtures on two stored grain insect pests. In: SHEJBAL, J. (Ed.) **Controlled atmosphere storage of grains**. Amsterdam: Elsevier, 1980. p. 101-118.
- CALIL, A. C. P. **Efeito de doses de fosfina e períodos de exposição, na mortalidade de formas adultas e imaturas de *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), em trigo**. Viçosa, 1995. 67p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.
- CANTARUTTI, F. R.; GUIMARÃES, L. J. M.; MIRANDA, G. V. **Comportamento de população de milho para a tolerância à seca**. Disponível em <[www.ufv.br/dft/milho/x\\_sic-8.htm](http://www.ufv.br/dft/milho/x_sic-8.htm)> Acesso em 13 mar. 2006.
- CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-108.
- CARVALHO, M. L. M. **Refrigeração e qualidade de sementes de milho armazenadas em pilhas com diferentes embalagens**. Piracicaba, 1992. 96 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 2000. 424 p.
- CASELLA, T. L. C. **Dióxido de carbono associado à fosfina, no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em grãos armazenados**. Viçosa, 1998. 82 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- CASTRO, R. D. de; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 51-67.
- CASTRO, R. D. de; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149-162.
- COCUCCI, A. E.; MARIATH, J. E. A. Gametogênese, fecundação, seleção do gametófito mais apto, embriogênese e diásporo maduro. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 15-30.
- COELHO, E. M.; D'ANTONINO-FARONI, L. R.; BERBERT, P. A.; MARTINS, J. H. Eficácia da mistura dióxido de carbono-fosfina no controle de *Sitophilus zeamais* em função do período de exposição. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.2, p. 227-234, 2000.

- CORRÊA, F. L. de O. **Efeito da embalagem e do ambiente de armazenamento na germinação e vigor de sementes de goiabeira (*Psidium guajava* L.)**. Lavras: UFLA, 1997. 57p.
- CRUZ-GARCIA, F.; GONZALEZ-HERNANDEZ, V. A.; MOLINA-MORENO, J.; VÁSQUEZ-RAMOS, J. K. Seed deterioration and germination as related to DNA metabolism in germinating maize. **Seed Science and Technology**, v.23, p. 477-486, 1995.
- DAHAL, P.; KIM, N. S.; BRADFORD, K. J. Respiration and germination rates of tomato seeds at suboptimal temperatures and reduced water potentials. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.47, p. 941-947, 1996.
- DAYNARD, T. B.; DUNCAN, W. G. The black layer and grain maturity in corn. **Crop Science**, New York, v.9, n.4, p. 473-476, 1969.
- DELOUCHE, J. C. Physiology of seed storage. In: CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 23., Washington, 1968. **Proceedings**. Washington: ASTA, 1968. p. 83-90.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v.1, n.2, p. 427-552, 1973.
- DUARTE, J. de O. Importância econômica. In: CRUZ, J. C.; VERSIANI, R. P.; FERREIRA, M. T. R. (Eds.) **Cultivo do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. 2000.
- EGLI, D. B. **Seed biology and the yield of grain crops**. New York: CAB International, 1998. p. 178.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Eds.) **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 21-54.
- FARONI, L. R. A. Principais pragas de grãos armazenados. In: ALMEIDA, F. A. C.; HARA, T.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M. **Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais**. Campina Grande: UFPB/SBEA, 1997. p. 189-291.
- FERGUNSON, J. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Changes during early soybean seed and axis deterioration. II. Lipids. **Crop Science**, v.30, p. 179-182, 1990.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 323 p., 2004.
- FESSEL, S. A.; MENDONÇA, E. A. F. de; CARVALHO, R. V. de; VIEIRA, R. D. Efeito do tratamento químico sobre a conservação de sementes de milho durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.1, p. 25-28, 2003.
- FRANÇA NETO, J. D. O teste de tetrazólio em sementes de soja. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.87-102, 1994.
- GONÇALVES, R. A.; SANTOS, J. P.; CHANDRA, P. K.; GERMANI, R. Controle de *Rhizopertha dominica* pela atmosfera controlada com CO<sub>2</sub>, em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.1, p. 1-9, 2000.
- GRABE, F. (RI) **Tetrazolium testing handbook for agricultural seeds**. Mississippi: Comissão de Teste de Tetrazólio da Associação de Analistas Oficiais de Sementes, 1976. 85 p.
- GUEDES, J. V. C.; BORTOLUZZI, G.; BRACKMANN, A.; COSTA, E. C. Controle de *Sitophilus zeamais* Motsch. através de diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. **Ciência Rural**: Santa Maria, v.26, n.2, p.177-180, 1996.
- HALLAUER, A. R.; RUSSEL, W. A. Estimates of maturity and it's inheritance in maize. **Crop Science**, New York, v.2, n.4, p. 289-294, 1962.
- HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. Zürich: ISTA, 1995. 117p.
- HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: Kolowski, T. (Ed.) **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. p. 145-245.
- HILHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D.; CASTRO, R. D.; SILVA, E. A. A.; THEREZINHA, M.; BRANDÃO JÚNIOR, D.; GUIMARÃES, R. M.; MACHADO, J. C.; ROSA, S. D. V. F.; BRADFORD, K. J. **Curso avançado em fisiologia e tecnologia de sementes**. Lavras:

- UFLA, 2001. p. 74.
- HOBBS, P. R.; OBENDORF, R. L. Interaction of initial seed moisture and imbibitional temperature on germination and productivity of soybean. **Crop Science**, New York, v.13, p. 664-667, 1972.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour: a compendium**. Rome: IPGRI, 1996. 101p. (Handbook for Genebanks, 4).
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário brasileiro 1995/1996**. Disponível em <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)> Acesso em 15 dez. 2004.
- IBRAHIM, A. E.; ROBERTS, E. H. Viability of lettuce seeds. I. Survival in hermetic storage. **Journal of Experimental Botany**, v.34, n.142, p. 620-630, 1983.
- IBRAHIM, A. E.; ROBERTS, E. H.; MURDOCH, A. J. Viability of lettuce seeds. II. Survival and oxygen uptake in osmotically controlled storage. **Journal of Experimental Botany**, v.34, n.142, p. 631-640, 1983.
- ISTA – International Seed Testing Association. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.21, p. 1-288, 1993. (Supplement).
- ISTA – International Seed Testing Association. International rules for seed testing: Rules 1985. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.13, n.2, p. 299-513, 1999.
- KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, Comitê de Vigor de Sementes, 1999.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington, D.C.: Secretaria Geral da OEA, 1983. 174 p. (Coleção de Monografias Científicas – Biológicas, 24).
- LEONG, E. C. W.; HO, S. H. Effects of carbon dioxide on the mortality of *Lioscelis bostrychophila* Bad. And *Liposcelis entomophila* End. (Psocoptera: Liposcelididae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.31, n.3, p.185-190, 1995.
- LIBERAL, O. H. T. **Padrões de coloração para o teste de tetrazólio**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1980. 20 p.
- LINDGREN, D. L.; VINCENT, L. E. Effect of atmospheric gases alone or in combination on the mortality of granary and rice weevils. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.63, p. 1926-1929, 1970.
- LUCCA-E-BRACCINI, A. de Banco de sementes e mecanismos de dormência em sementes de plantas daninhas. In: OLIVEIRA Jr, R. S. de; CONSTANTIN, J. (Coords.) **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 58-102.
- MAGALHÃES, P. C.; RESENDE, M.; OLIVEIRA, A. C. de; DURÃES, F. O. M.; SANS, L. M. A. Caracterização morfológica de milho de diferentes ciclos. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiânia. **Resumos**. Goiânia: ABMS, 1994. p. 190.
- MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2003. 23p. (Circular técnica 22).
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**. v.1, p. 176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.1, p. 1-21.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.
- MARTINAZZO, A. P. **Utilização da fosfina em combinação com dióxido de carbono no controle do *Rhizopertha dominica* (F.)**. Viçosa, 1998. 88 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- MASSARDO, F.; CORCUERA, L.; ALBERDI, M. Embryo physiological responses to cold by two cultivars of oat during germination. **Crop Science**, New York, v.40, n.6, p. 1694-1701, 2000.
- MBATA, G. N.; REICHMUTH, C. The comparative effectiveness of different modified atmospheres for the disinfestation of Bambarra Groundnuts, *Vigna subterranea* (L.) Verde, infested by *Callosobruchus subinnotatus* (Pic) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored**

- Products Research**, Oxford, v.32, n.1, p. 45-51, 1996.
- McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Virum, v.27, p. 177-237, 1999.
- MITCHAM, E. J.; ZHOU, S.; BIKOBA, V. Controlled atmospheres for quarantine control of three pests of table grape. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.90, n.5, p. 1360-1370, 1997.
- MUELLER, D. K. A new method of using low levels of phosphine in combination with heat and carbon dioxide. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED PRODUCT PROTECTION, 6., 1994, Canberra. **Proceedings**. Canberra, [s.n.], 1994.
- MUSSI, M. M. **Germinação e vigor de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetidas a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>, períodos de exposição e embalagens**. Curitiba, 2005. 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.
- NASCIMENTO, W. M. Envolvimento do etileno na germinação de sementes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p. 163-174, 2000.
- OLIVEIRA-FONSECA, M. J. de Sistema de produção do sorgo para o cerrado: secagem e armazenamento. **Comunicado técnico 81**. Sete Lagoas: EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. 2003.
- OLIVEIRA-GENTIL, D. F. de **Conservação de sementes de *Myrciaria dúbia* (H.B.K.) McVaugh**. Piracicaba, 2003. 41p. Tese (Doutor em Agronomia, Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- PERL, M. ATP synthesis and utilization in the early stage of seed germination in relation to seed dormancy and quality. **Physiologia Plantarum**, v.66, p. 177-182, 1982.
- PERRY, D. A. Seed vigour and field establishment. **Horticulture**, Londres, v.4, n.2, p. 334-42, 1972.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; VALENTINI, S. R. T. Aplicação dos testes de tetrazólio. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Ed.). **Manual técnico de sementes florestais**. 1995. p. 75-84. (série n. 14).
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; VIEIRA, J. D. Teste de germinação. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. (Ed.). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 70-90.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: Pax, 1985. 289p.
- PRADET, A. Oxidative phosphorylation in seeds during the initial phases of germination. In: KHAN, A. A. (ed) **The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination**. New York: Elsevier Biomedical, 1982.
- PRADET, A.; RAYMOND, P. Adenine nucleotide ratios and adenylate energy charge in energy metabolism. **Annual Review of Plant Physiology**, v.34, p. 199-224, 1983.
- PROBERT, R.; SMITH, R. **Seed viability and the prediction of longevity**. /Apresentado ao Seed Conservation Training Course, Jaboticabal, 1996/.
- PROZELL, S.; REICHMUTH, C. Response of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) (Col.: Curculionidae) to controlled atmospheres under high pressure. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 5., 1990, Bordeaux. **Proceedings**. Bordeaux, 1990. p. 911-921.
- PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 2000. 666 p.
- RAZERA, L. F.; LAGO, A. A.; MAEDA, J. A.; ZINK, E.; GODOY JÚNIOR, G. E.; TELLA, R. **Armazenamento de sementes de arroz e milho em diferentes embalagens e**



- localidades paulistas.** Campinas, v.45, n.2, p. 337-352, 1986.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal.** 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728p.
- REMÉDIO, M. A. Controle de ataque de insetos em bibliotecas e arquivos: uma experiência com CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>. **Registro**, Indaiatuba, v.1, n.1, 2002.
- REN, Y.L.; O'BRIEN, I.G.; WHITTLE, C.P. Studies on the effect of carbon dioxide in insect treatment with phosphine. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED PRODUCT PROTECTION, 6., 1994, Canberra. **Proceedings.** Canberra, [s.n.], 1994.
- RENCH, W. E.; SHAW, R. H. Black layer development in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, n.2, p. 303-305, 1971.
- RITCHIE, S.; HANWAY, J. J. **How a corn plant develops.** Ames: Iowa State University of Science and Technology / Cooperative Extension Service, 1989. (Special Report 48).
- ROBERTS, E. H. Storage environment and the control of viability. In: ROBERTS, E. H. (Ed.) **Viability of seeds.** Syracuse: Syracuse University Press, 1972. cap.2, p. 14-58.
- ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seeds Science and Technology**, v.1, p. 499-514, 1973.
- ROBERTS, E. H.; ELLIS, R. H. Water and seed survival. **Annals of Botany**, v.63, n.1, p. 39-52, 1989.
- RODRÍGUEZ, J. C.; BARTOSIK, R. E.; MALINARICH, H. D. **Informe preliminar sobre almacenaje de granos de trigo en bolsas plásticas: sistema silobag.** Disponível em: <<http://www.intabalarce.org/eventos/Trigo2002/Rodriguez.htm>> Acesso em 28 mar. 2003.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology.** 4.ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682p.
- SALTVEIT, M. E. Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? **Postharvest Biology and technology**, Amsterdam: Elsevier, v.27, n.1, p. 3-13, 2003.
- SANTIPRACHA, W.; SANTIPRACHA, Q.; WONGARODOM, V. Hybrid corn quality and accelerated aging. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.25, p.203-208, 1997.
- SANTOS, D. S. **Viabilização de atmosfera modificada pelo CO<sub>2</sub> na manutenção das qualidades do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento.** Lavras, 1995. 96 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras.
- SANTOS, J. P. **Controle de pragas de grãos de sorgo armazenados.** Sete Lagoas: EMBRAPA, 2003. 6p. (Comunicado técnico 22).
- SANTOS, J. P. Perdas causadas por insetos de grãos armazenados. In: SIMPÓSIO DE PROTEÇÃO DE GRÃOS ARMAZENADOS, 1993, Passo Fundo. **Anais.** Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1993. p. 9-22.
- SARY, H.; YAMEOGO, C. S.; STUBSGAARD, F. **The CO<sub>2</sub> method to control insect infestation in tree seed.** Dinamarca: Danilda Forest Seed Centre, DFSC, 1993. (Nota Técnica nº 42).
- SARTORI, M. R.; PACHECO, I. A.; VILAR, R. M. G. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil. 2. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 5., 1990, Bordeaux. **Proceedings.** Bordeaux, 1990. p. 1041-1049.
- SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed.** Dinamarca: DFSC, 2000.
- SIEBENMORGEN, T. J.; FREER, M. W.; BENZ, R. C.; LOEWER, O. J. Controlled atmosphere storage system for rice. **Paper ASAE**, n. 86-6511, 1986, 26p.
- SILVA, E. M. N. Determinação de umidade. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. (Coord.). **Manual de análises de sementes florestais.** Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 60-69.
- SINHA, R. N. The stored-grain ecosystem. In: JAYAS, D.; WHITE, N. D. G.; MUIR, W. E. (Eds.) **Stored-grain ecosystems.** New York: Marcel Dekker, 1995. p. 1-33.
- SPALDING, D. H.; KNIGHT JR., R. J.; REEDER, W. F. Storage of avocado seeds. **Proceeding of Florida State for Horticultural Society**, v.89, n. 2-4, p. 257-258, 1976.
- STUBSGAARD, F. **Seed storage.** n.c-9, Dinamarca: Danilda Forest Seed Centre, 1992.
- SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. Cytoplasmic vitrification and survival of anhydrobiotic

- organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.117a, n.3, p. 327-333, 1997.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.
- TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Relationship of seed vigour to crop yield: a review. **Crop Science**, Madison, v.31, n.3, p. 816-822, 1991.
- THAPLIYAL, R. C.; SOOD, O. P.; RAWAT, M. M. S. Effect of moisture content and storage temperature on the viability of *Bambusa tulda* seed. **The International Tree Crops Journal**, v.7, p.67-75, 1991.
- UNIVERSITY OF KENTUCKY. College of Agriculture. **Plant Physiology I: Seed development**. Disponível em: <<http://www.ca.uky.edu/agripedia/Classes/PLS622/media/LEC08.PDF>> acesso em 06 abr. 2005.
- VALENTINI, S. R. T.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Aplicação do teste de vigor em sementes. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Manual técnico de sementes florestais**. 1995. p. 75-84 (n. 14).
- VEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.
- VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 266-281.
- WALTERS, C. Levels of recalcitrance in seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia**, v.12, p. 7-21, 2000. Edição especial.
- WEBER, E. A. **Armazenagem agrícola**. Porto Alegre: Kepler Weber Industrial, 1998. 400 p.
- WHITE, N. D. G.; JAYAS, D. S. Control of insects and mites with carbon dioxide in wheat stored at cool temperatures in nonairtight bins. **Journal of Economic Entomology**, New York, v.84, n.6, p.1933-1942, 1991.
- WHITE, N. D. G.; JAYAS, D. S.; DEMIANYK, C. J. *et al.* Alternatives to methyl bromide for space fumigation and commodity treatment. In: WORKSHOP ON METHYL BROMIDE ALTERNATIVES, Toronto, (**separata**), 1996.
- WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical control. In: SUBRAMANYAM, B; HAGSTRUM, D. (Eds.) **Integrated management of insects in stored products**. New York: Marcel Dekkers, 1996. p. 287-330.
- WHITE MARTINS **Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)**. Disponível em: <[http://www.whitemartins.com.br/site/catalogo/dioxido\\_carbono.html](http://www.whitemartins.com.br/site/catalogo/dioxido_carbono.html)> acesso em 7 jan. 2005.
- WIELEWICKI, A. P. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUI. **Produção e tecnologia de sementes**. 2001. Disponível em: <<http://www.unijui.tche.br/ãpw?sementes.html>> acesso em 15 abr. 2005.
- WILLAN, R. L. **A guide to forest seed handling**. FAO Forestry Paper, n.20/2. Roma: FAO. 1985.
- WOLK, W. D.; DILLON, P. F.; COPELAND, L. F.; DILLEY, D. R. Dynamics of imbibition in *Phaseolus vulgaris* L. in relation to initial seed moisture content. **Plant Physiology**, v.89, p. 805-810, 1989.
- ZAIDAN, L. P. B.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 135-146.

## **ANEXOS**

ANEXO 1 – Características do gás dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

Dióxido de Carbono - CO <sub>2</sub>						GÁS NÃO-INFLAMÁVEL E NÃO TÓXICO	
Nº ONU 1013 – FISPQ P-4574 - Grupo de Risco: 1							
Grau	Especificações	Tipo de Cilindro	Conteúdo (kg)	Pressão (kgf/cm <sup>2</sup> )	Peso Bruto (kg)	Tipo de Válvula	Controles Recomendados
4.8	<b>Pureza Mínima (fase líquida)</b> 99,998% <b>Impurezas (ppm)</b> N <sub>2</sub> <5; O <sub>2</sub> <3; H <sub>2</sub> O<2 THC* (como CH <sub>4</sub> )<1; CO<1; H <sub>2</sub> <1 Hidrocarbonetos não voláteis (como undecano)< 50 ppb	ALS	15	58,3	39	WM 4 (ABNT 209-1)	Sob Consulta
4.5 Laserstar	<b>Pureza Mínima (fase líquida)</b> 99,995% <b>Impurezas (ppm)</b> H <sub>2</sub> O<5; THC* <2	T G	33,0 4,5	58,3 58,3	101,0 16,5	WM 4 (ABNT 209-1)	Regulador automático de pressão Modelo SR-310/311/312
4.0	<b>Pureza Mínima (fase líquida)</b> 99,99%	T G	33,0 4,5	58,3 58,3	101,0 16,5	WM 4 (ABNT 209-1)	Regulador automático de pressão Modelo SR-310/311/312
2.8	<b>Pureza Mínima (fase líquida)</b> 99,8%	T G	33,0 4,5	58,3 58,3	101,0 16,5	WM 4 (ABNT 209-1)	Regulador automático de pressão Modelo SR-310/311/312
USP	<b>Pureza Mínima (fase líquida)</b> 99,8% <b>Impurezas (ppm)</b> H <sub>2</sub> S< 1; H <sub>2</sub> O<200; NH <sub>3</sub> <25; SO <sub>2</sub> <5; CO<10; NO <sub>x</sub> <2,5	T G	33,0 4,5	58,3 58,3	101,0 16,5	WM 4 (ABNT 209-1)	Regulador automático de pressão Modelo SR-310/311/312

THC - Total Hydrocarbon Content - Conteúdo Total de Hidrocarbonetos

Fonte: White Martins, 2005.

ANEXO 2 – Análise de variância dos resultados do teste de tetrazólio para o vigor. Curitiba – PR, 2004.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F	Probabilidade
CO <sub>2</sub>	3	2198,7783	732,9261	35,2175	0.00001
Período de exposição	4	595,3535	148,8384	7,1518	0.00021
CO <sub>2</sub> x Período de exposição	12	1064,0305	88,6692	4,2606	0.00017
Resíduo	60	1248,6851	20,8114		
Total	79	5106,8474			

Coefficiente de variação: 6,71 %

G.L.: graus de liberdade

S.Q.: soma de quadrados

Q.M.: quadrado médio

ANEXO 3 – Análise de variância dos resultados do índice de velocidade de emergência. Curitiba – PR, 2004.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F	Probabilidade
CO <sub>2</sub>	3	63,4408	21,1469	39,3633	0.00001
Período de exposição	4	39,3868	9,8467	18,3289	0.00001
CO <sub>2</sub> x Período de exposição	12	20,4040	1,7003	3,1650	0.00179
Resíduo	60	32,2335	0,5372		
Total	79	155,4651			

Coefficiente de variação: 4,86 %

G.L.: graus de liberdade

S.Q.: soma de quadrados

Q.M.: quadrado médio

ANEXO 4 – Análise de variância dos resultados do teste de germinação. Curitiba – PR, 2004.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F	Probabilidade
CO <sub>2</sub>	3	448,9386	149,6462	2,5516	0,06297
Período de exposição	4	2943,2184	735,8046	12,5462	0,00001
CO <sub>2</sub> x Período de exposição	12	2318,8802	193,2400	3,2949	0,00131
Resíduo	60	3518,8583	58,6476		
Total	79	9229,8955			

Coefficiente de variação: 10.008 %

G.L.: graus de liberdade

S.Q.: soma de quadrados

Q.M.: quadrado médio

ANEXO 5 – Análise de variância dos resultados do teste de tetrazólio para o potencial de germinação. Curitiba – PR, 2004.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F	Probabilidade
CO <sub>2</sub>	3	626,1544834	208,7181611	18,5240	0,00001
Período de exposição	4	45,1125023	11,2781256	1,0010	0,41526
CO <sub>2</sub> x Período de exposição	12	315,4705354	26,2892113	2,3332	0,01574
Resíduo	60	676,0450846	11,2674181		
Total	79	1662,7826057			

Coefficiente de variação: 3,886 %

G.L.: graus de liberdade

S.Q.: soma de quadrados

Q.M.: quadrado médio

ANEXO 6 – Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

Concentrações de CO <sub>2</sub> (%)	Período de exposição ao CO <sub>2</sub> (dias)				
	0	15	30	45	60
0	64,	62	57	56	61
50	65	60	67	72	74
75	65	75	80	73	81
90	65	69	69	73	75

ANEXO 7 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência (IVE) nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

Concentrações de CO <sub>2</sub> (%)	Período de exposição ao CO <sub>2</sub> (dias)				
	0	15	30	45	60
0	14,2	13,33	14,55	14,35	13,39
50	14,19	13,67	15,34	16,54	14,85
75	14,19	13,84	15,28	16,82	14,84
90	14,94	16,57	16,42	17,24	17,11

ANEXO 8 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

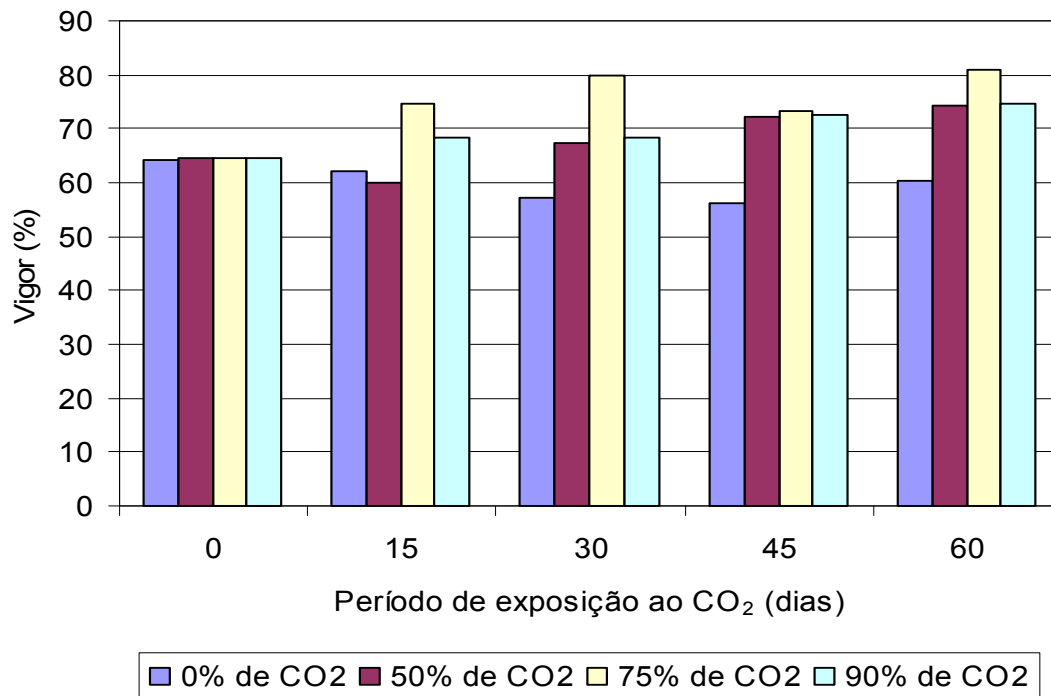
		<b>Período de exposição ao CO<sub>2</sub> (dias)</b>				
		<b>0</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
<b>Concentrações de CO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>0</b>	82	77	81	77	61
	<b>50</b>	82	76	83	85	77
	<b>75</b>	82	77	71	89	55
	<b>90</b>	82	80	62	81	73

ANEXO 9 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz) nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

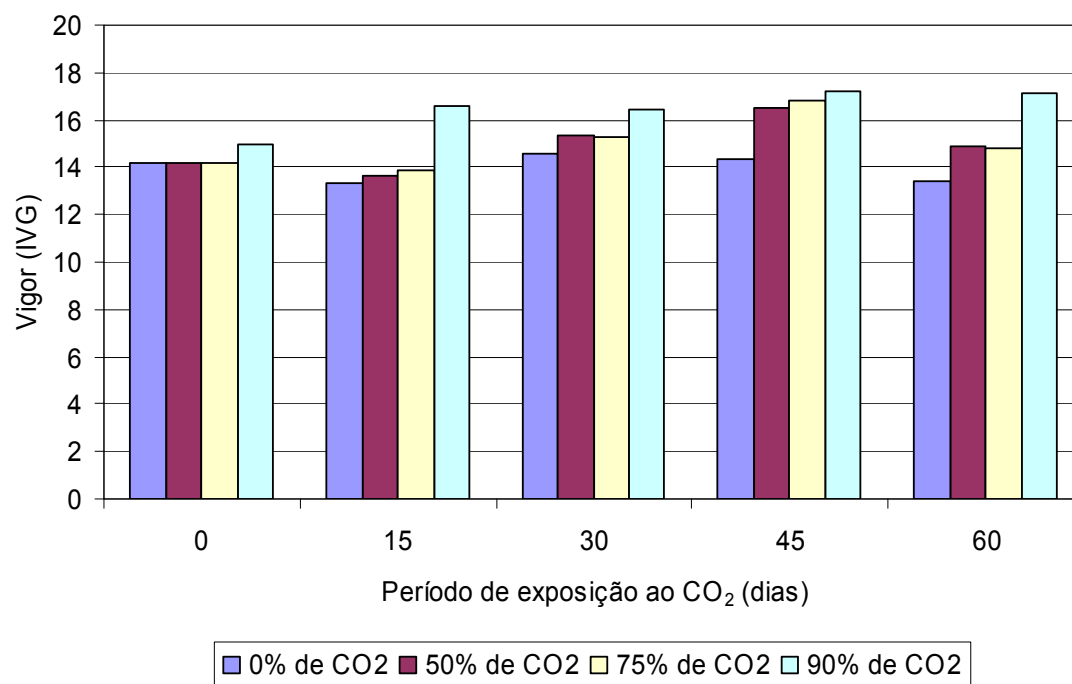
		<b>Período de exposição ao CO<sub>2</sub> (dias)</b>				
		<b>0</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
<b>Concentrações de CO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>0</b>	86	84	82	80	77
	<b>50</b>	86	85	89	90	87
	<b>75</b>	86	89	91	87	91
	<b>90</b>	86	89	90	89	87



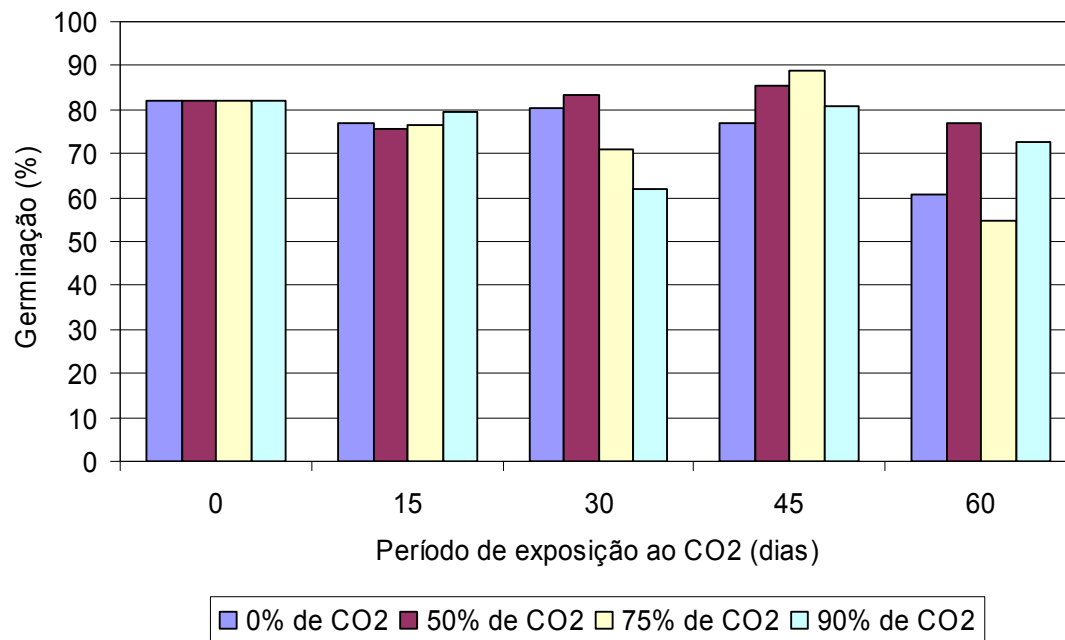
ANEXO 10 – Porcentagem de vigor obtida por meio do teste de tetrazólio, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.



ANEXO 11 – Vigor determinado por meio do índice de velocidade de emergência (IVE) nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.



ANEXO 12 – Porcentagem de germinação obtida por meio do teste de germinação, nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.



ANEXO 13 – Porcentagem do potencial de germinação obtida por meio do teste de tetrazólio (Tz) nas diferentes concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e períodos de exposição ao CO<sub>2</sub>. Curitiba – PR, 2004.

