

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CITROS E TESTES RÁPIDOS PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA

JAIRO ADEMIR DE CARVALHO

JAIRO ADEMIR DE CARVALHO

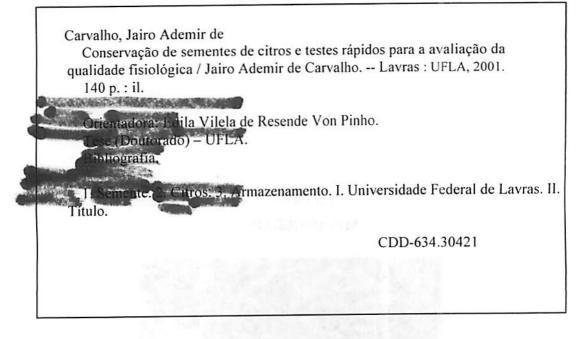
CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CITROS E TESTES RÁPIDOS PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientadora Prof^a. Dr^a Édila Vilela de Resende Von Pinho

LAVRAS MINAS GERAIS 2001

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA



JAIRO ADEMIR DE CARVALHO

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CITROS E TESTES RÁPIDOS PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 15 de outubro de 2001

Dr. João Almir de Oliveira	UFLA
Prof. Renato Mendes Guimarães	UFLA
Prof ^a Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias	UFV
Dr. Antônio Rodrigues Vieira	EPAMIG

Strantin Prof^a. Dr^a Édila Vilela de Resende Von Pinho

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Jairo e Sebastiana, A todos os meus familiares,

OFEREÇO -

À minha esposa, Patrícia À minha filha, Lara,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de realização do curso e à CUTRALE, pela doação de material de pesquisa.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Édila Vilela de Resende Von Pinho, orientadora, e ao Dr. João Almir de Oliveira, co-orientador, pela disponibilização dos seus conhecimentos na condução deste trabalho.

Aos demais membros da banca examinadora: Renato Mendes Guimarães, Denise Cunha F. S. Dias e Antônio Rodrigues Vieira, pelas sugestões que contribuíram para a melhoria desse trabalho.

Às professoras Maria Laene Moreira de Carvalho e Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pelos valiosos ensinamentos durante o curso.

Às funcionárias e amigas do Departamento de Patologia de Sementes, Terezinha e Angela, pela contribuição na execução dos experimentos.

Ao estagiário Lisandro Tomas Bonome, pela laboriosa tarefa que contribuiu para a realização deste trabalho.

A todos os funcionários, estagiários, bolsistas e alunos do Setor de Sementes, pelo agradável ambiente de trabalho.

A todos os amigos e colegas do curso de Pós-graduação, pelas sugestões e apoio moral.

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1: Conservação de sementes de citros	3
1 RESUMO	3
2 ABSTRACT	4
3 INTRODUÇÃO	5
4 REFERENCIAL TEÓRICO	6
4.1 Longevidade das sementes de citros	6
4.2 Tolerância à dessecação em sementes	9
4.3 Armazenamento e deterioração de sementes	14
5 MATERIAL E MÉTODOS	20
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6.1 Qualidade das sementes de Citromelo Swingle durante o	I
armazenamento	25
6.1.1 Teor de água das sementes	25
6.1.2 Germinação das sementes	28
6.1.3 Germinação das sementes após o envelhecimento artificial	45
6.1.4 Teste de emergência em bandejas	53
6.2 Qualidade das sementes de Limão Cravo durante o armazenamento.	62
6.2.1 Teor de água das sementes	62
6.2.2 Qualidade fisiológica e sanitária das sementes no início do	,
armazenamento	65
6.2.3 Qualidade fisiológica e sanitária das sementes durante o	i
armazenamento	68

SUMÁRIO

7 CONCLUSÕES	90
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

fisiológica de sementes de Citromelo Swingle
I RESUMO
2 ABSTRACT
3 INTRODUÇÃO
4 REFERENCIAL TEÓRICO
4.1 Teste de pH do exsudato
4.2 Teste de condutividade elétrica
4.3 Teste de tetrazólio
5 MATERIAL E MÉTODOS
5.1 Determinação do teor de água
5.2 Teste de germinação
5.3 Teste de emergência de plântulas
5.4 Teste de pH do exsudato (fenolftaleina)
5.5 Teste de condutividade elétrica
5.6 Teste de tetrazólio
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO
6.1 Teor de água das sementes
6.2 Teste de pH do exsudato (fenolftaleína)
6.3 Teste de condutividade elétrica
6.4 Teste de tetrazólio
7 CONCLUSÕES
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
9 ANEXOS

RESUMO

CARVALHO, Jairo Ademir de. Conservação de sementes de citros e testes rápidos para a avaliação da qualidade fisiológica. Lavras: UFLA, 2001. 140p. (Tese – Doutorado em Agronomia).*

A baixa longevidade e a germinação lenta das sementes de citros comprometem a formação das mudas, e fatores como o teor de água das sementes, temperatura do ambiente e tipo de embalagem podem influenciar na viabilidade das sementes durante o armazenamento. Em consequência da germinação lenta das sementes de citros, a avaliação da qualidade fisiológica por meio de testes rápidos pode ser considerada como um recurso extremamente útil para as empresas produtoras de sementes, no sentido de possibilitar um controle de qualidade mais rápido e eficiente. Nesse sentido, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o comportamento das sementes de Citromelo Swingle e Limão Cravo, acondicionadas com quatro teores de água e em três tipos de embalagens durante o armazenamento em condição ambiente e câmara fria, assim como adaptar metodologias dos testes de fenolftaleina, de condutividade elétrica e de tetrazólio, para avaliar a viabilidade de sementes de *Citromelo Swingle*. As sementes de *Citromelo Swingle* comportam-se como recalcitrantes quando armazenadas tanto em condição ambiente como em câmara fria. Já para as sementes de *Limão Cravo*, esse comportamento foi marcante a partir de sexto mês de armazenamento, principalmente para as amostras acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável e armazenadas em condição ambiente. As melhores condições para a conservação das sementes de Citromelo Swingle foram o acondicionamento com 44% de teor de água em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. Já para as sementes de Limão Cravo, o acondicionamento com teor de água entre 44 e 27%, embalagem impermeável e ambiente refrigerado permitiu maior potencial de armazenamento. É viável a utilização do teste de pH do exsudato para estimar de forma rápida a viabilidade de sementes de Citromelo Swingle, uma vez que foi possível classificar e diferenciar os lotes em 30 e 60 minutos, à semelhança do teste de emergência de plântulas e de germinação, respectivamente. Pelos testes de tetrazólio e de condutividade elétrica foi possível avaliar o vigor das sementes em até 30 horas.

^{*}Comitê Orientador: Prof[®] Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. João Almir de Oliveira – UFLA.

ABSTRACT

CARVALHO, Jairo Ademir de. Conservation of the citrus seeds and rapid tests for evaluating the physiological quality. Lavras: UFLA, 2001. 140p. (Thesis – Doctorate in Agronomy)*

Both the poor longevity and slow germination of citrus seeds jeopardize seedling formation and such factors as water content in seeds, environmental temperature and sort of package may influence the viability of seeds during storage. Owing to the slow germination of citrus seeds, evaluation of the physiological quality by means of fast tests may be regarded as a extremely useful resource for seed-producing enterprises in the sense of enabling a faster and more efficient quality control. In that sense, with this work, evaluating the behavior of seeds of *Citromelo Swingle* and *Cravo Lemon*, packed with four water contents and three sorts of packages during storage under environmental condition and cold chamber as well as adapting the methodology of the fast tests of phenolftaleine, electric conductivity and tetrazolium to evaluate the viability of seeds of *Citromelo Swingle* were aimed. The seeds of *Citromelo Swingle* behaved themselves as recalcitrant when stored both in environmental condition and in cold chamber. But, for the seeds of *Cravo Lemon*, that behavior was marked from the sixth month of storage, mainly for the samples packed in semipermeable and permeable packages and storage in environmental condition. The best conditions for conservation of *Citromelo Swingle* seeds were the packing with 44% of water content in a water-proof package and in refrigerated environment. However, for the seeds of *Cravo Lemon* the packing with water content between 44 and 27%, impermeable packages and refrigerated environment enabled the greatest storage potential. Utilization of the pH test of the exudate to estimate in a fast way the viability of the seeds of *Citromelo Swingle* is feasible, since it was possible to classify and to distinguish the lots in 30 and 60 minutes in the manner of the seedling emergence and germination tests, respectively. Through the tetrazolium and electric conductivity test, it was possible to evaluate the seeds vigor up to 30 hours.

^{*}Guidance Committee: Prof[®] Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (major professor), Dr. João Almir de Oliveira – UFLA

INTRODUÇÃO GERAL

A citricultura nacional é economicamente, um setor agrícola de grande importância, uma vez que o Brasil é o maior exportador de suco de laranja concentrado do mundo. Nos últimos anos, a produção de citros no Brasil aumentou consideravelmente e dados recentes revelam que o País possui a maior população de plantas cítricas do mundo. Dessa forma, há uma grande demanda por mudas de alta qualidade em épocas que sejam mais oportunas para o citricultor. A disponibilidade de mudas, no entanto, depende de sementes com qualidade, uma vez que a muda cítrica normalmente é resultado do processo de enxertia, em que os porta-enxertos são geralmente propagados por meio de sementes.

Um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores de mudas de citros diz respeito à germinação lenta das sementes, que prolonga consideravelmente o período de formação das mudas. Além da germinação lenta, sementes de algumas espécies de citros apresentam baixa longevidade após a colheita. Essas sementes não podem sobreviver à dessecação abaixo de um teor de água considerado crítico para a espécie. Além disso, a longevidade das sementes pode variar conforme a espécie, a temperatura e a umidade relativa durante o armazenamento. Outro fator importante relacionado à manutenção da viabilidade das sementes é o tipo de embalagem na qual as mesmas são acondicionadas. Atualmente, existem vários tipos de embalagens utilizadas para o armazenamento de sementes, sendo essas classificadas de acordo com seu grau de permeabilidade ao vapor de água.

O conhecimento da qualidade fisiológica das sementes de citros em tempo hábil é necessário para a tomada de decisões por parte dos produtores de sementes e mudas. O parâmetro mais utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes é o teste de germinação. No entanto, sementes de citros

apresentam germinação lenta, e o teste de germinação pode ser prolongado por até 60 dias. Isso cria situações em que, quando se obtêm os resultados do teste de germinação, esse pode não refletir o verdadeiro estado fisiológico das sementes, além da predisposição dessas ao ataque de patógenos durante o teste, prejudicando seriamente a germinação. Dessa forma, a utilização de testes rápidos para a avaliação da viabilidade das sementes é importante em programas de controle de qualidade nas empresas produtoras de sementes e mudas de citros, permitindo a tomada de decisões em tempo hábil.

Assim, objetivou-se avaliar o comportamento das sementes de *Citromelo Swingle* e *Limão Cravo* em diferentes condições de armazenamento. Foi objetivo ainda nesta pesquisa adaptar metodologias de testes rápidos para a avaliação da viabilidade das sementes de *Citromelo Swingle*.

CAPÍTULO 1

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CITROS

1 RESUMO

CARVALHO, Jairo Ademir de. Conservação de sementes de citros. Lavras: UFLA, 2001. 140p. (Tese – Doutorado em Agronomia).*

Um dos maiores problemas enfrentados na citricultura durante o processo de formação de mudas é a germinação lenta e a baixa longevidade das sementes. Fatores como o teor de água das sementes, temperatura do ambiente e tipo de embalagem podem influenciar na viabilidade das sementes durante o armazenamento. Nesse sentido, objetivou-se avaliar o comportamento das sementes de Citromelo Swingle e Limão Cravo tratadas ou não com fungicidas, acondicionadas com quatro teores de água e em três tipos de embalagens durante o armazenamento. Após colhidos, os frutos foram despolpados mecanicamente e as sementes degomadas. Para atingir os teores de água desejados, as sementes foram submetidas à secagem na sombra. Parte das amostras das sementes foi tratada com a mistura dos fungicidas Tecto 100 (200g/100Kg de sementes) e Captan 75 (300g /100Kg de sementes) e a outra parte não recebeu tratamento. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em embalagem impermeável, semi permeável e permeável e armazenadas em condições ambiente e de câmara fria por um período de oito meses, para as sementes de Citromelo Swingle e por nove meses para as de Limão Cravo. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da UFLA. Em intervalos bimestrais para Citromelo Swingle e trimestrais para Limão Cravo, foram realizados os testes de germinação, envelhecimento artificial, emergência de plântulas, teor de água e sanidade. As sementes de Citromelo Swingle comportam-se como recalcitrantes quando armazenadas tanto em condição ambiente como em câmara fria. Já para as sementes de Limão Cravo, esse comportamento foi marcante para as amostras acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável e armazenadas em condição ambiente. As melhores condições para a conservação das sementes de Citromelo Swingle foram o acondicionamento com 44% de teor de água em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. As condições para a conservação das sementes de Limão Cravo foram semelhantes às de Citromelo Swingle; no entanto, elas puderam ser armazenadas com teores de água entre 44% e 27%. Recomenda-se também o tratamento fungicida das sementes no momento do armazenamento para maior segurança.

^{*}Comitê Orientador: Prof^a Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. João Almir de Oliveira – UFLA

CHAPTER 1

CONSERVATION OF CITRUS SEEDS

2 ABSTRACT

CARVALHO, Jairo Ademir de. Conservation of citrus seeds. Lavras: UFLA, 2001. 140p. (thesis -doctorate in Agronomy)*

One of the greatest problems faced in citrus growing during the process of seedling formation is the slow germination and poor longevity of seeds. Factors such as water content in seeds, environmental temperature and sort of package may influence the viability of seeds during storage. In this sense, evaluating the behavior of the seeds of Citromelo Swingle and Cravo Lemon either treated or not with fungicides, packed with four water contents and in three types of packages during storage was aimed After harvested, the fruits were pulped mechanically and the seeds degummed. To reach the desired water contents, the seeds were submitted to drving in the shade. A part of the sample of the seeds, was treated with the mixture of the fungicides Tecto 100 (200g /100kg of seeds) and Captan 75 (300g /100kg of seeds) and the other part no treatment was given. Next, the samples were packed into impermeable, semi-permeable and permeable packages and stored under environmental and cold chamber conditions for eight months for the seeds of Citromelo Swingle and for nine months for those of Cravo Lemon. The experiment was conducted in the UFLA seed analysis laboratory. In two-month intervals for Citromelo Swingle and of three months for Cravo Lemon, tests of germination, of artificial aging, of seedling emergence, of water content and sanity were accomplished. The seeds of Citromelo Swingle behaved themselves as recalcitrant when stored both in environmental condition and in cold chamber. But, for the seeds of Cravo Lemon, that behavior was marked from the sixth month of storage, mainly for the samples packed in semipermeable and permeable packages and storage in environmental condition The best conditions for the conservation of seeds of Citromelo Swingle were the packing with 44% of water content in impermeable and permeable packages and in refrigerated environment. The conditions for conservation of Cravo Lemon seeds were similar to those of Citromelo Swingle, nevertheless, they were able to be stored with water contents between 44% and 27%. The treatment with fungicide of seeds at the moment of storage is also advised for greater safety.

*Guidance Committee: Prof^a Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (major professor), Dr. João Almir de Oliveira – UFLA.

3 INTROĐUÇÃO

As divisas geradas pela exportação de suco de laranja concentrado e a mão-de-obra empregada na sua produção fazem das espécies cítricas culturas de grande importância socioeconômica para o País.

A colheita dos frutos maduros para a extração das sementes destinadas à formação de porta- enxertos é feita de fevereiro a agosto, dependendo da espécie, e a época para a implantação do pomar é de outubro a fevereiro. Nessa época, há uma grande demanda de mudas por parte dos produtores. Para atender a essa demanda, deverão estar disponíveis aos viveristas sementes de boa qualidade para a produção das mudas. As sementes de citros perdem rapidamente a qualidade, comprometendo a disponibilidade de sementes viáveis por ocasião da semeadura. Assim, o domínio de técnicas de conservação das sementes é de grande importância para a citricultura, permitindo a semeadura para a produção de mudas em épocas adequadas, permitindo, ainda, a preservação de estoques genéticos e a manutenção de estoques reguladores para o atendimento de necessidades imprevisíveis.

Em geral, as sementes conservam-se melhor à medida que o teor de água é reduzido. Existem, porém, sementes de espécies denominadas recalcitrantes, que exigem teor de água elevados para sua conservação.

A maioria das sementes recalcitrantes não sofre secagem natural na planta, perdendo somente uma quantidade limitada de água durante a fase de maturação, sendo elas dispersas com teor de água relativamente alto mostrandose sensíveis à desidratação. O grau de tolerância à desidratação varia com a espécie e com o estádio de desenvolvimento em que ocorre a dispersão. Sementes recalcitrantes apresentam geralmente menor longevidade o que pode comprometer a conservação dessas sementes durante o armazenamento.

O armazenamento em condições ambientais adequadas de temperatura e umidade relativa do ar constitui etapa importante dentro do sistema de produção e comercialização das sementes. Tanto a umidade relativa como a temperatura do ar são fatores importantes para a conservação das sementes. Contudo, a umidade exerce influência bem mais acentuada e direta na longevidade das sementes, interferindo sobremaneira na velocidade do processo de deterioração e na infestação e/ou infecção das sementes por microrganismos. Sabe-se que temperaturas e umidades relativas do ar baixas são as melhores condições para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes, para a maioria das espécies. Também o tipo de embalagem interfere na conservação das sementes, uma vez que o mesmo pode ou não controlar a troca de umidade da semente com o ambiente.

Com base nessas considerações e tendo em vista que a literatura é carente de informações para a adequada conservação de sementes recalcitrantes, especialmente de citros, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o comportamento das sementes de *Citromelo Swingle* e de *Limão Cravo* em diferentes condições de armazenamento.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Longevidade das sementes de citros

A qualidade da muda é de fundamental importância para o êxito da citricultura, visando principalmente a uma produção alta e lucrativa (Daher, 1980). A muda citrica normalmente é resultado do processo de enxertia, em que os porta-enxertos são geralmente propagados por meio de sementes. Assim, a disponibilidade de sementes com qualidade é um fator importante para o sucesso desse setor agrícola.

A maioria das sementes de espécies de citros apresenta germinação lenta, além de baixa longevidade após a colheita. Diferentes lotes de sementes de uma mesma cultivar diferem em longevidade, dentro das mesmas condições ambientais. De maneira similar, diferenças em longevidade podem ser observadas entre sementes de diferentes populações de uma espécie que tenham sido produzidas num mesmo ambiente e, posteriormente, armazenadas sob as mesmas condições (Bewley & Black, 1994). A longevidade das sementes pode variar ainda de acordo com as condições de pré-colheita, como o clima, e de pós-colheita, como injúrias mecânicas, tratamentos químicos e "priming" (Carvalho & Von Pinho, 1997). Segundo (Roberts, 1981), os efeitos das condições ambientais na longevidade das sementes podem se iniciar no momento em que as sementes estão sendo formadas na planta-mãe.

Roberts (1973) propôs uma classificação baseada na sobrevivência de sementes durante o armazenamento em relação ao teor de água e temperatura. Sementes ortodoxas podem ser secas a baixos teores de água, sem sofrerem danos, até um potencial de água na semente de -350 Mpa, que corresponde a um teor de água em torno de 4%. Numa ampla faixa de ambiente de armazenagem, a longevidade da semente aumenta com o decréscimo no teor de água e na temperatura de armazenagem. As sementes ortodoxas são capazes de sobreviver por longos períodos em temperaturas ambiente. Sementes recalcitrantes não podem sobreviver à dessecação abaixo de um teor de água comparativamente alto. De acordo com (King & Roberto, 1979), mesmo com altos teores de água, as sementes recalcitrantes tendem a mostrar uma longevidade curta, além de que em muitas espécies há evidências de danos por resfriamento em temperaturas abaixo de 15 °C. King & Roberts (1979), ainda classificaram as sementes de citros, em relação a tolerância à secagem, como

intermediárias e recalcitrantes. Berjak, Ferrant & Pammenter (1990) sugeriram que as sementes de espécies recalcitrantes podem ainda ser classificadas em três grupos: pouco, moderadamente e altamente recalcitrantes.

Bonner (1990) propôs uma classificação específica para sementes florestais que as divide em recalcitrantes temperadas e tropicais. As recalcitrantes temperadas são sensíveis à dessecação, mas podem ser secas até 30% de água e armazenadas a temperaturas entre 3 a -3° C, mantendo sua viabilidade por 12 a 30 anos. Já as recalcitrantes tropicais são sensíveis à dessecação e sofrem danos por embebição. Além disso, muitas não toleram o congelamento. Nesse grupo está incluída a maioria das espécies florestais tropicais e culturas tropicais, como a borracha, cacau, coco e manga.

A variação de potenciais hídricos em que as sementes recalcitrantes podem suportar varia entre espécies e está entre -1,5 e -5 MPa, os quais correspondem aproximadamente a 70 e 40% de teor de água (Probert & Longley, 1989).

Segundo (Roberts, 1972), as sementes de Citrus spp. são consideradas problemáticas do ponto de vista de armazenamento. Esse autor afirma que o periodo de longevidade dessas sementes não está bem definido. Pelos resultados alguns trabalhos, constatou-se que tais sementes apresentaram de comportamento recalcitrante durante o armazenamento. No entanto, outros autores mostraram que sementes de várias espécies de Citrus spp. comportam-se como intermediárias. Em C. aurantium L. (laranja azeda), a dessecação de 44% para 3,8% de teor de água reduziu a viabilidade de 90% para 22%. Por outro lado, a viabilidade das sementes sobreviventes foi mantida durante 346 dias de armazenagem em embalagem impermeável a 5°C (Barton, 1943). Também (King et al. 1981), trabalhando com sementes dessa mesma espécie, com teor de água de 5%, verificaram redução para 20% na viabilidade das sementes durante 8 meses de armazenamento em embalagem impermeável a -20°C. Por meio dos testes posteriores, constatou-se que essa viabilidade foi reduzida para 4% após 127 meses de armazenamento nesse regime. Mumford & Panggabean (1982), estudando o comportamento de sementes de *C. aurantium* L., verificaram perda total da viabilidade após 5 dias, pela dessecação abaixo de 8% de teor de água, quando armazenadas sob sílica gel em dessecadores e em temperatura ambiente. No mesmo experimento, embriões secos extraídos e armazenados nessas condições mostraram rápida redução da viabilidade nos primeiros 12 dias. No entanto, a viabilidade dos embriões restantes (cerca de 30%) foi mantida durante 110 dias.

Mungomery, Agnew & Prodonoff (1966) afirmaram que a viabilidade de sementes de tangerina cleópatra (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento por longos períodos, desde que conservadas com alto teor de água (acima de 40%) e em temperaturas de 5 a 10°C. Também Hong e Ellis (1995) relataram que, em geral, a manutenção do teor de água, em torno de 40%, em sementes de citros armazenadas em temperatura de 2 a 4°C em embalagem de polietileno e na presença de fungicida permitiu a manutenção de sua viabilidade por vários anos.

4.2. Tolerância à dessecação em sementes

Após a fertilização e um período de intensiva divisão mitótica, todas as sementes sofrem histodiferenciação, na qual os tecidos são diferenciados e tornam-se morfologicamente aparentes. Em seguida, há um período durante o qual reservas, tais como amido, proteínas e lipídeos são acumuladas. Finalmente, há uma fase durante a qual a matéria seca estabiliza, a água é perdida e como conseqüência, o peso úmido das sementes declina (Bewley & Black, 1994; Guimarães, 1999). Para sementes ortodoxas, o conteúdo de água continua a declinar até atingir o equilíbrio em função da umidade relativa do ar. Contudo, a maioria das sementes recalcitrantes perde somente uma quantidade limitada de água durante a fase de maturação. Elas são dispersas com teor de água relativamente alto e são sensíveis à desidratação. O grau de tolerância à desidratação varia de acordo com a espécie e depende do estádio de desenvolvimento em que são dispersas (Berjak & Pammenter, 2000).

Após a histodiferenciação, as células de sementes ortodoxas completam os vacúolos com proteínas, acumulam açúcares, alteram a composição da membrana, produzem proteínas LEA (late-embryogenesis-abundant) e as membranas entram no estado vítreo. Essas modificações hipoteticamente seriam responsáveis por conferir tolerância a dessecação às sementes. No entanto, esses mesmos processos podem ocorrer nos mesmos graus em sementes recalcitrantes, dificultando a demonstração de que atuariam como protetores. Moléculas que se acumulam nos tecidos durante a embriogênese podem conceder proteção a um estresse específico e podem ser ineficazes para outros (Walters, 2000).

Walters (2000) trabalhou no sentido de identificar o estresse à desidratação em algumas espécies, quantificando os níveis de umidade em que os danos são observados. A medida que ocorre a maturação dos embriões, a tolerância à dessecação é adquirida em níveis de potencial de água progressivamente mais baixos e, portanto, o autor concluiu que existem potenciais de água críticos próximos a -1,8; -5; -12; -50 e -180 MPa, os quais representam situações nas quais as células devem se ajustar à medida que adquirem tolerância à desidratação.

Segundo Pammenter & Berjak (2000) há três tipos de injúrias causadas pela dessecação em sementes recalcitrantes. A primeira seria mecânica e estaria associada à redução do volume celular e provavelmente ocorre somente em células altamente vacuoladas, como, por exemplo, em *Avicenia marina*. O segundo tipo de injúria é a degradação oxidativa em solução aquosa, decorrente

do metabolismo desregulado que ocorre em teores de água intermediários. Em condições de secagem lenta, essa injúria leva à morte das sementes recalcitrantes. Assim, a resposta à desidratação depende da atividade metabólica da semente e da taxa de dessecamento. Dessa maneira, é difícil medir a tolerância à dessecação, porque não existe um teor de água crítico que caracteriza a espécie, a não ser o teor mínimo absoluto que possa ser tolerado com a secagem o mais rápido possível. Um terceiro tipo está relacionado ao dano biofísico em estruturas macromoleculares que ocorre quando se remove água em teores muito baixos. Provavelmente, esse tipo de injúria seja letal para todos os tecidos que foram dessecados muito rapidamente.

A característica de recalcitrância em sementes varia entre e dentro das espécies, e está relacionada ao conteúdo de água de dispersão, à tolerância a desidratação, à resposta a taxa de secagem, à sobrevivência no armazenamento e à resposta a baixas temperaturas de armazenagem (Berjak *et al.* 1993; Finch-savage, 1992; Tompsett, 1992 citado por Hong & Ellis, 1995). Dentro dessas características, há uma extensa variação no comportamento das sementes, desde minimamente recalcitrantes, com uma longevidade relativamente longa e tolerantes à dessecação, até maximamente recalcitrantes, com longevidade curta e muito sensíveis à dessecação (Farrant *et al.* 1988). Segundo os mesmos autores, dentre as espécies que possuem comportamento maximamente recalcitrantes, destacam-se citros, café e cacau.

Para considerar a resposta de sementes recalcitrantes à perda de água, é importante conhecer as propriedades da água dentro dos tecidos das sementes. Baseados em propriedades calorimétricas, (Vertucci & Farrant. 1995), identificaram cinco tipos de água ou níveis de hidratação nos tecidos das sementes. Nos diferentes níveis de hidratação, a água nos tecidos tem diferentes propriedades físicas. Em teores de água elevados, a água tem propriedade de água em solução diluída. Quando o teor decresce, água assume propriedade em

solução concentrada, em que a interação entre a água e a solução torna-se forte, e o sistema assume comportamento "ideal". Com a remoção de mais água, a solução torna-se concentrada e viscosa e tem a propriedade de vidro. Finalmente, em teores de água muito baixos, característica de sementes ortodoxas, toda a água restante é fortemente associada com superficies macromoleculares, sua mobilidade é reduzida e ela constitui o limite de água.

Em diferentes níveis de hidratação, por causa de mudanças nas propriedades termodinâmicas da mudança da água, diferentes processos metabólicos podem ocorrer (Vertucci & Farrant (1995). Nos teores altos de água, o metabolismo ocorre normalmente e as sementes podem germinar. No nível de hidratação entre -3 e -1,5 MPa, a síntese de proteínas e ácidos nucleicos, junto com a respiração, é possível, mas há água insuficiente para o crescimento celular e germinação. Em teores de água reduzido, a síntese de proteínas e ácidos nucleicos não são possíveis, mas alguma respiração pode ser detectada.

Durante a maturação, sementes ortodoxas sofrem dessecação, reservas insolúveis são acumuladas, o volume de água nos vacúolos é reduzido e moléculas protetoras são sintetizadas. Essas modificações são acompanhadas pela de-diferenciação de organelas altamente diferenciadas, particularmente mitocondrias, e há uma interrupção do metabolismo, até que finalmente mecanismos protetores, tais como vitrificação e desenvolvimento de proteínas como as LEA (Late Embryogenic Abundant), tornam-se ativos. Com a completa dessecação, mecanismos antioxidantes são ativados. A questão é se esses processos também são necessários para a aquisição da tolerância e qual a sua extensão em sementes recalcitrantes (Farrant *et al.*, 1997).

Farrant *et al.* (1997) estudaram o desenvolvimento de três diferentes espécies de sementes: *Avicennia marina*, que é uma espécie tropical que produz sementes altamente recalcitrantes; *Aesculus hippocastanum*, uma espécie

temperada que produz sementes recalcitrantes e Phaseolus vulgaris, espécie agrícola que produz sementes ortodoxas. O estudo foi realizado em três estádios de desenvolvimento das sementes: intermediário, após a histodiferenciação (estágio 1), na metade da fase de acumulação de reservas (estágio 2) e no final da fase de acumulação de reservas (estágio 3). Neste estágio, as sementes de Phaseolus vulgaris foram coletadas com alto teor de água antes de iniciar a fase de dessecação durante a maturação. A sensibilidade à dessecação foi medida baseada no teor de água no qual a viabilidade de eixos embrionários dessecados foi rapidamente perdida. Avicennia marina foi muito sensível e não tolerou dessecação nos três estágios de desenvolvimento. Em Aesculus hippocastanum foi observado aumento na tolerância com o desenvolvimento, mas foi sensível no último estágio de desenvolvimento. Phaseolus vulgaris teve a tolerância aumentada com o desenvolvimento, tornando-se cada vez mais tolerante até o último estágio de desenvolvimento. Em Avicennia marina, a mais sensível entre as três espécies estudadas, uma quantidade muito menor de reservas insolúveis foi acumulada durante o desenvolvimento, enquanto nas espécies mais tolerantes o acúmulo dessas reservas ocorreu em quantidades bem majores. Os autores também quantificaram a atividade metabólica das sementes. Em Phaseolus vulgaris, espécie ortodoxa, além da atividade metabólica ser menor em relação as outras espécies, houve declínio com o desenvolvimento. Já nas espécies Avicennia marina Aesculus hippocastanum, a atividade metabólica foi maior.

Proteínas LEAs têm sido encontradas em muitas espécies de sementes recalcitrantes temperadas e tropicais. Contudo, elas não estão presentes em todas as espécies recalcitrantes, como, por exemplo, em eixos embrionários de espécies tropicais. É possível que a presença de LEA proteína possa contribuir para a tolerância à dessecação e ao resfriamento em algumas espécies recalcitrantes (Pammenter & Berjak, 2000).

Se oligossacarídeos, tais como rafinose, estão presentes em taxas regulares, então, o estado vítreo pode ocorrer quando a água é perdida, promovendo proteção contra a dessecação. Açúcares, em taxas regulares, ocorrem em muitas sementes recalcitrantes (Farrant *et al.* 1993), e é possível que o estado vítreo possa ocorrer com a desidratação. Contudo, esse estado, se ocorrer, obviamente não protetor efetivo.

4.3 Armazenamento e deterioração de sementes

A qualidade fisiológica de sementes armazenadas pode ser afetada por diversos fatores, dentre os quais destacam; o processo de secagem, tratamento químico da semente, umidade inicial da semente, embalagem e condições de armazenamento.

A operação de secagem pode predispor as sementes a uma rápida perda da germinação e vigor durante o armazenamento. Os principais fatores envolvidos são o tempo e a temperatura em que as sementes são expostas.

No caso de sementes de citros, a perda da viabilidade ocorre pela simples desidratação ao ar. Portanto, torna-se necessário que a secagem seja feita à sombra e que as sementes não atinjam certos limites de teor de água, pois abaixo desses, elas perdem rapidamente o poder germinativo (Roberts, 1972). Esse autor recomenda que as sementes sejam secas até atingirem aproximadamente 40% de teor de água, pelo fato de serem intolerantes à dessecação.

Outro fator que pode influenciar na conservação das sementes durante o armazenamento é a embalagem. Atualmente, existem muitos tipos de embalagens utilizados no armazenamento de sementes, sendo essas classificadas de acordo com seu grau de permeabilidade ao vapor de água em porosas, semipermeáveis e impermeáveis. As porosas são permeáveis ao vapor

de água, permitindo uma livre troca desse vapor entre a semente e o ambiente de armazenamento. As semipermeáveis são aquelas que permitem alguma troca de umidade entre a semente e o ambiente. Já as impermeáveis não permitem a troca de umidade com o meio ambiente, mas poderá haver um aumento da umidade relativa de equilíbrio no interior da embalagem, se houver uma rápida queda de temperatura. A condensação pode ocorrer na superfície das sementes e essas poderão absorver umidade.

Sementes de citros são comumente armazenadas sob refrigeração e em sacos de polietileno, favorecendo a sua conservação por períodos maiores sem perdas apreciáveis de viabilidade (Hong & Ellis, 1995). Segundo (Nauer & Carson, 1985), a manutenção da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento depende de fatores, tais como espécie, tratamento de préarmazenagem, condições de armazenagem e tipo de embalagem.

Segundo (Delouche & Baskin, 1973), a queda do potencial de armazenamento é uma das manifestações do processo de deterioração que culmina com a redução do poder germinativo e morte da semente. A velocidade de deterioração de sementes durante o armazenamento é influenciada por fatores dos quais os mais importantes são a umidade e temperatura do ar, taxa de crescimento dos patógenos, condição fisiológica inicial da semente e sua característica genética.

Conforme (Toledo & Marcos filho, 1977), a respiração é a causa primária de esgotamento de reservas embrionárias, de alterações na estrutura protéica e de inativação enzimática. Desse modo, os autores sugerem as baixas temperaturas e umidades relativas do ar como agentes para reduzir a intensidade do processo respiratório, como solução para preservar a qualidade fisiológica das sementes. O teor de água da semente depende da umidade relativa do ar na qual está armazenada. Em condições de altas umidades relativas, as sementes podem absorver umidade, por causa de sua higroscopicidade, criando ambiente

favorável ao desenvolvimento de microrganismos durante o armazenamento (Pereira, 1992).

Outro aspecto a ser considerado na armazenagem de sementes é a presença e o desenvolvimento de fungos (Christensen, 1973). Esses são capazes de invadir as sementes durante o seu desenvolvimento, após a maturidade e na colheita, principalmente quando as sementes são conservadas em condições desfavoráveis (Smith & Berjak, 1995). Após invadirem as sementes, a maioria dos patógenos vive em associação ou dentro dos protoplastos celulares onde estão os conteúdos celulares, como o citoplasma e o núcleo. Esses patógenos nutrem-se desses conteúdos, que são ricos em moléculas pequenas, como açúcares e aminoácidos. Outros constituintes celulares, como proteínas e ácidos graxos, podem ser utilizados apenas após a degradação por enzimas secretadas pelo patógeno (Carvalho & Von Pinho, 1997).

De acordo com (Bewley & Black, 1994), existem duas categorias de fungos associados às sementes: os fungos de campo e os de armazenamento. Os fungos de campo, geralmente, têm sua incidência reduzida durante o armazenamento, ao passo que os de armazenamento desenvolvem-se com grande facilidade, reduzindo, dessa maneira, a qualidade das sementes. A taxa de multiplicação das populações de fungos durante o armazenamento depende de diversos fatores biológicos, temperatura e umidade relativa do ar.

Os principais fungos de armazenamento são dos gêneros Aspergillus e *Penicilliumm*. As condições de armazenamento exercem grande influência no desenvolvimento desses patógenos, que possuem grande habilidade para se desenvolverem, comprometendo a qualidade da semente, causando redução ou perda da capacidade de germinação, apodrecimento, descolorações, bolor e aquecimento da massa de sementes. Esses fungos podem se desenvolver numa faixa de temperatura que varia de 5 a 40°C (Machado, 1988). Christensen (1973) considerou que 13,5% é o teor de água acima do qual as sementes de muitas espécies apresentam maiores riscos de serem infectadas por fungos de armazenamento. Sementes com 17 a 19% de umidade na presença de fungos, armazenadas entre 15 e 30°C, perdem rapidamente sua viabilidade. Portanto, a redução do teor de água das sementes é um método efetivo para evitar o desenvolvimento de fungos. Entretanto, autores como (Hong & Ellis, 1995) afirmam que as sementes de citros conservam-se bem somente com teores de água elevados, e isso é possível desde que haja tratamento químico para o controle dos fungos.

Além desses fatores que contribuem para redução da qualidade fisiológica das sementes, as mesmas estão sujeitas ao processo natural de deterioração durante o armazenamento. Após a fertilização do óvulo, alterações degenerativas iniciam-se nas sementes, reduzindo sua qualidade fisiológica, em função das condições adversas à que essas sementes são expostas até o momento da colheita e nas etapas subseqüentes. A deterioração ocorre como conseqüência da degeneração de organelas celulares, que estão intimamente associadas à degradação do sistema de membranas celulares (Copeland & McDonald, 1995).

A deterioração de sementes envolve uma seqüência de eventos fisiológicos e bioquímicos que conduzem para a perda da viabilidade. Nesses eventos, incluem-se o aumento na atividade de enzimas, como RNAses, lipoxigenases, isoesterases, proteases, e reduções em outras, como α e β -amilase, superperóxido dismutase, catalase e glutamato redutase (McDonald, 1999). Por meio de análises bioquímicas foi possível observar o declínio de proteína em embriões de sementes de milho (Basavarajappa, Shetty & Prakash, 1991), alterações de carboidratos em sementes de milho (Bernal-Lugo & Leopold, 1992) e reduções no conteúdo de lipídeos em sementes de girassol, durante o processo de deterioração das sementes (Halder, Kole & Gupta, 1983).

A perda da integridade das membranas, assim como a diminuição na proporção de ácidos graxos insaturados, têm sido também verificadas em sementes deterioradas. Nesse sentido, (Lin & Pearce, 1990) detectaram redução no conteúdo de ácidos graxos em sementes de feijão envelhecidas. Declínios no conteúdo de fosfolipídeos totais em sementes de feijão envelhecidas foram também detectados em diversos trabalhos citados por (Powell & Matthews, 1981).

As membranas celulares são constituídas por uma camada dupla de moléculas de lipídeos, as quais se associam, interna e externamente, a moléculas de proteínas (Bewley & Black, 1994). Os principais constituintes são os lipídeos polares, representados pelos fosfolipídeos, que apresentam um grupo hidrofílico em uma das extremidades da molécula e na outra dois ácidos graxos de cadeia longa, hidrofóbicos. Essa camada funciona como uma barreira à difusão de solutos celulares (Guimarães, 1999).

A deterioração das sementes é resultado das reações oxidativas que ocorrem por meio da auto-oxidação ou peroxidação, em que os lipídeos podem ser o sítio principal que dá origem a essas reações (Copeland & McDonald, 1995). Além disso, as reações oxidativas envolvidas no processo de deterioração podem estar relacionadas com a atividade de enzimas do tipo lipoxigenases, cuja função seria acelerar a peroxidação de lipídeos, afetando consideravelmente a integridade do sistema de membranas, levando à redução da longevidade das sementes (Vieira, 1994).

Conforme (Carvalho, 1994), a primeira reação do processo de deterioração é a oxidação dos ácidos graxos insaturados, que produz grupos químicos altamente reativos e instáveis denominados radicais livres, que atacam lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos por meio de reação em cadeia altamente prejudicial. Essa reação resulta na desestruturação da membrana, fazendo com que a mesma perca sua capacidade de regular o fluxo de entrada e saída de água

e solutos. As hidroxilas (OH) e os superperóxidos (O_2) são os radicais mais importantes envolvidos no processo de deterioração da semente, os quais requerem a presença de O_2 para a sua formação. O ânion superperóxido (O_2) é um radical livre produzido por auto-oxidação de hidroquinonas e tiols, bem como por desidrogenases mitocondriais. Basavarajappa, Shetty & Prakash (1991) investigaram mudanças que ocorrem durante o envelhecimento acelerado em sementes de milho e detectaram decréscimo na atividade de peroxidase, o que pode tornar a semente mais sensível aos efeitos de O_2^- e outros radicais livres sobre ácidos graxos insaturados de membrana, com conseqüente produção de compostos secundários de peroxidação de lipídeos, como malondealdeido. Segundo (MacDonald, 1999), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) é outro composto secundário produzido na peroxidação.

Khan *et al.* (1996) detectaram perda na qualidade fisiológica de sementes de soja após o armazenamento à temperatura de 35 °C sob luz contínua, associada ao aumento da formação de radicais livres e à peroxidação de lipídeos em testes de sementes.

De acordo com (McDonald, 1999), uma forma de limitar a peroxidação de lipídeos é a redução da quantidade de oxigênio disponível às sementes, com o objetivo de evitar a formação de radicais livres. Essa pode ser uma das justificativas para o armazenamento a vácuo de sementes em embalagens herméticas. Além disso, as células possuem um sistema complexo de defesa antioxidante contra a ação de O₂ ativado. Processos enzimáticos e não enzimáticos atuam no sentido de neutralizar formas de O₂ ativado. Existem enzimas capazes de realizarem a desintoxicação de O₂ e H₂O₂, dentre as quais destacam-se superperóxido dismutase (SOD), que tem sido detectada no citoplasma celular e em mitocondrias; catalase (CAT), que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio a oxigênio e água e são formadas no

citoplasma, porém, ausentes na mitocondria; glutamato peroxidase (GP), que catalisa a remoção do H_2O_2 e peróxidos de lipídeos.

Alguns compostos não enzimáticos presentes nas sementes também reagem com o oxigênio ativado, bloqueando as reações em cadeia de radicais livres. Glutamato (GSD) é um antioxidante solúvel em água, encontrado no citoplasma, que reage com o O_2^- , •OH e 1O_2 . As vitaminas E (tocoferol) e C (ácido ascórbico) são outros processos não enzimáticos que reduzem radicais livres de peróxidos de lipídeos polinsaturados.

Dessa forma, as condições às quais as sementes são expostas durante armazenamento, podem influenciar grandemente no processo de deterioração, tornando-as mais ou menos expostas aos radicais livres.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Universidade Federal de Lavras, MG, no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura. Foram utilizadas sementes de citros referentes às espécies *Citromelo Swingle* e *Limão Cravo*. As sementes foram produzidas em Limeira - SP, onde foram extraídas mecanicamente dos frutos e degomadas. No processo de degomagem, metodologia adotada pela CUTRALE, 5 litros de sementes foram imersos por 1 hora numa solução contendo 10 litros de água potável, 3 litros de hipoclorito de sódio a 12%, 7,5g de soda cáustica escamada e 10ml de ácido muriático. As sementes foram agitadas por um período de 15 minutos. Após 1 hora, foram lavadas em água corrente e deixadas à sombra para retirar o excesso de umidade. Após esse processamento, uma das amostras de sementes foi tratada com os fungicidas Captan 75 e Tecto 100, nas dosagens de 300g e 200g dos produtos, respectivamente, para cada 100 kg de sementes, e uma outra amostra

não sofreu tratamento fungicida. As sementes de *Citromelo Swingle* extraídas em março de 1998 foram secas à sombra até atingirem os teores de água de 44%, 29%, 16% e 6%. Em seguida, foram embaladas em três tipos de embalagens: impermeável (sacos de polietileno revestidos internamente com papel jornal), semipermeável (sacos de papel multifoliado) e permeável (sacos de pano), e armazenadas em dois ambientes (câmara fria à 10°C e em condições de ambiente). As sementes de *Limão Cravo* extraídas em maio de 1998 foram secas à sombra até atingirem os teores de água de 44%, 27%, 13% e 9%. As embalagens e os ambientes de armazenamento foram os mesmos adotados para as sementes de *Citromelo Swingle*.

Combinando os diferentes teores de água das sementes, tratamentos fungicida, tipos de embalagens utilizados no experimento de sementes de *Citromelo Swingle* e *Limão Cravo*, obtiveram-se 24 tratamentos para cada espécie em cada condição de armazenamento (convencional e câmara fria) Tabela 1.

As sementes de *Citromelo Swingle* permaneceram armazenadas durante oito meses e as de *Limão Cravo*, nove meses. Periodicamente, a intervalos bimestrais (para Citromelo) e trimestrais (para Limão), foram retiradas amostras para avaliação do teor de água, bem como da qualidade fisiológica e sanitária, utilizando-se os seguintes testes:

- Teste de germinação

A semeadura foi realizada em folhas de papel germitest, pelo sistema de rolos, umedecidas com água desmineralizada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. A seguir, as sementes foram transferidas para o germinador, regulado à temperatura de 25 °C. As contagens foram realizadas no décimo sexto e no trigésimo dia, computando-se o número de plântulas normais. Foram utilizadas seis repetições de 25 sementes por tratamento para *Citromelo Swingle* e oito para *Limão Cravo*. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

TABELA 1. Tratamentos referentes aos diferentes teores de água, tratamento fungicida e tipos de embalagens, obtidos no experimento de sementes de Citromelo Swingle¹ e Limão Cravo² armazenadas em armazém convencional e câmara fria. UFLA, Lavras – MG, 2001.

P (Teor de água (%)		Tratamento	Tipo de
Tratamento	CS ¹	LC ²	fungicida	embalagem
]	44	44	Com	Impermeável
2	29	27	Com	Impermeável
3	16	13	Com	Impermeável
4	6	9	Com	Impermeável
5	44	44	Com	Semipermeável
6	29	27	Com	Semipermeável
7	16	13	Com	Semipermeável
8	6	9	Com	Semipermeável
9	44	44	Com	Permeável
10	29	27	Com	Permeável
11	16	13	Com	Permeável
12	6	9	Com	Permeável
13	44	44	Sem	Impermeável
14	29	27	Sem	Impermeavel
15	16	13	Sem	Impermeável
16	6	9	Sem	Impermeável
17	44	44	Sem	Semipermeável
18	29	27	Sem	Semipermeável
19	16	13	Sem	Semipermeável
20	6	9	Sem	Semipermeável
21	44	44	Sem	Permeável
22	29	27	Sem	Permeável
23	16	13	Sem	Permeável
24	6	9	Sem	Permeável

- Emergência em bandeja

A semeadura foi realizada em bandejas plásticas contendo como substrato solo+areia na proporção 1:1. As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal, previamente regulada com temperatura de 25°C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas). As contagens foram realizadas no décimo sexto e no trigésimo dia. Consideraram-se para os cálculos das percentagens os resultados obtidos aos 30 dias, computando-se o número de plântulas emergidas com um par de folhas. O teste foi realizado com 6 e 8 repetições de 25 sementes por tratamento, respectivamente, para *Citromelo Swingle e Limão Cravo*.

- Envelhecimento artificial

Este teste foi realizado pelo método de gerbox, adaptado conforme prescrições da (ISTA, 1995). Amostras de 200 sementes por tratamento foram acondicionadas em caixas gerbox com uma tela adaptada. Em cada caixa colocou-se 40ml de água destilada e as sementes foram distribuídas uniformemente sobre a tela, tomando-se o cuidado para que não ficassem sobrepostas e nem entrasse em contato com a água no fundo das caixas. A seguir essas foram colocadas em uma câmara à temperatura de 42°C, por um período de 24 horas. Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente. Os resultados foram expressos em porcentagem, computando-se o número de plântulas normais a partir do décimo sexto até o trigésimo dia.

- Teste de sanidade

Para a avaliação da qualidade sanitária, foi adotado o método do papel de filtro modificado, descrito conforme (Machado, 1988). Foram analisadas 200 sementes por tratamento, distribuídas em 8 repetições de 25 sementes por placa de Petri (previamente esterilizada) de 15 cm de diâmetro e, sobre três folhas de papel de filtro (previamente esterilizadas) e umedecidas com água destilada autoclavada. Em seguida, as placas foram colocadas em sala de incubação a 20°C sob regime alternado de 12 horas de luz branca e 12 horas no escuro, durante 7 dias. Após esse período, com auxílio de um microscópio estereoscópio, foram feitas a identificação e quantificação (%) dos fungos presentes nas sementes.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x3x4. Os fatores estudados foram tratamentos químico, tipos de embalagens e teores de água. Os dados foram analisados para cada época de avaliação e para cada ambiente de armazenamento.

Os dados obtidos no experimento referente à espécie Citromelo Swingle não apresentaram distribuição normal; por isso, foram analisados estatisticamente por meio de intervalo de confiança para proporções, segundo (Ferreira & Zambalde, 1997). Já os dados referentes à espécie Limão Cravo apresentaram distribuição normal; portanto, foram analisados por meio de análise de variância.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Qualidade das sementes de Citromelo Swingle durante o armazenamento

6.1.1. Teor de água das sementes

Os resultados médios dos teores de água das sementes, determinados aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento, para cada tratamento e ambiente de armazenamento, estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Esses dados não foram analisados estatisticamente.

Foi observado, aos dois meses de armazenamento, naqueles tratamentos nos quais as sementes foram armazenadas em embalagens semipermeável e permeável, redução do teor de água das sementes. Isso ocorreu porque nesses tipos de embalagens há troca de vapor de água entre as sementes e o ambiente. Assim, as sementes entraram em equilíbrio higroscópico com o ambiente em que se encontravam. Esse equilíbrio se deve à característica de higroscopicidade das sementes, que permite a absorção ou perda de umidade para o ambiente, conforme as diferenças de potencial hídrico entre a semente e o ar ambiente (Baskin, 1975).

Com relação às amostras acondicionadas em embalagem impermeável, o teor de água das sementes manteve-se praticamente inalterado a partir do terceiro mês de armazenamento.

Pelas Tabelas 2 e 3, verificou-se ainda que, em geral, as sementes armazenadas em armazém convencional apresentaram teores de água acima daqueles observados nas sementes armazenadas em câmara fria. Provavelmente, isso tenha ocorrido devido à menor temperatura e umidade relativa do ar (10 °C+ 1 °C e UR 50% + 1%) nas condições da câmara fria. Já no ambiente

convencional, os valores de temperatura e umidade relativa médios foram de 22,10 °C e 68,03%, respectivamente (Tabela 1A).

TABELA 2. Resultados médios de teor de água (%) de sementes de Citromelo
Swingle sob diferentes tratamentos, aos zero, dois, quatro, seis e
oito meses de armazenamento em armazém convencional. UFLA,
Lavtas, MG, 2001.

			Époc	as de armazena	umento (mês)	
TF	Ε	0	2	4	6	8
	I	44	31,98	32,24	33,18	32,00
	I	29	29,52	32,86	33,34	27,93
	Ι	16	13,79	14,75	13,08	11,35
	I	6	7,04	8,64	8,74	9,17
	SP	44	10,23	10,32	10,44	10,18
	SP	29	10,50	11,82	11,08	9,85
Com	SP	16	9,31	12,43	11,44	9,90
	SP	6	8,90	10,90	11,14	9,57
	Р	44	10,35	9,71	10,13	9,15
	Р	29	9,83	11,14	9,86	9,22
	Р	16	8,98	10,37	10,96	9,44
	Р	6	8,50	10,08	10,72	9,38
	Ι	44	30,97	31,97	32,33	29,00
	Ι	29	28,15	32,49	32,58	26,99
	I	16	13,75	12,22	11,05	10,21
	I	6	7,12	7,95	8,37	8,94
	SP	44	10,36	10,52	11,63	9,42
	SP	29	10,32	11,41	11,30	10,01
Sem	SP	16	9,52	11,04	11,05	10,12
	SP	6	8,63	10,55	11,05	9,88
	P	44	10,52	10,11	11,29	8,80
	Ρ	29	9,50	11,77	10,83	9,81
	P	16	8,97	10,82	10,96	9,31
	P	6	8,26	10,32	10,74	9,27

TF - tratamento fungicida

I - impermeável

SP - semipermeável

P - permeável

E - tipo de embalagem

TABELA 3. Resultados médios do teor de água (%) de sementes de *Citromelo Swingle* sob diferentes tratamentos, aos zero, dois, quatro, seis e oito meses de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras, MG, 2001.

	- William and William and		Épocas	de armazename	ento (mês)	****
TF	E	0	2	4	6	8
	I	44	45,88	46,47	47,20	44,04
	I	29	28,97	30,66	33,38	34,22
	I	16	13,87	14,71	13,73	11,83
	Ι	6	6,61	8,04	7,78	7,57
	SP	44	17,64	7,66	7,61	7,48
	SP	29	8,42	7,81	7,42	7,15
Com	SP	16	6,76	7,31	7,36	7,43
	SP	6	6,32	7,93	6,75	6,91
	Р	44	14,41	8,03	7,58	7,37
	Р	29	9,48	7,45	7,19	7,15
	Ρ	16	6,99	7,38	7,47	7,30
	Ρ	6	6,39	7,02	7,31	6,85
	I	44	45,35	47,27	46,53	46,01
	I	29	29,10	32,01	31,98	33,69
	I	16	13,55	12,15	10,37	9,29
	Ι	6	6,57	6,77	7,50	6,35
	SP	44	18,01	7,59	7,10	7,43
	SP	29	8,98	7,60	6,94	6,96
Sem	SP	16	6,99	7,16	7,13	7,09
	SP	6	6,22	6,71	6,51	6,60
	Р	44	14,02	7,79	7,36	7,23
	Ρ	29	8,99	7,72	7,35	7,26
	Ρ	16	6,54	7,15	6,94	6,86
	Ρ	6	6,45	6,88	6,50	6,50

TF - tratamento fungicida

E - tipo de embalagem

I - impermeável

SP - semipermeável

P - permeável

6.1.2 Germinação das sementes

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de germinação das sementes de Citromelo Swingle com diferentes teores de água no início do armazenamento. De um modo geral, os valores de germinação das sementes de Citromelo Swingle foram baixos. Foram observados menores valores de germinação nas sementes não tratadas com fungicidas em relação aos das sementes tratadas. Pelos dados apresentados na Tabela 5, houve maior incidência de patógenos nas sementes não tratadas, o que provavelmente contribuiu para a redução nos valores de germinação. Nas sementes armazenadas com 29% de teor de água, houve maior incidência de patógenos, mesmo nas sementes submetidas ao tratamento fungicida. Provavelmente sementes com esse teor de água apresentem condições ideais para o desenvolvimento de patógenos. Vários pesquisadores constataram que os fungos diferem na habilidade de absorver água do substrato e que existe uma faixa de potencial hídrico adequado ao crescimento de cada espécie. Segundo Coutinho (2000), algumas espécies de Fusarium sp. e Alternaria sp. crescem em potenciais hídricos em torno de -11Mpa, os quais, segundo (Berjak & Pammenter, 2000) correspondem aproximadamente a 25% de teor de água nas sementes.

De maneira geral, o tratamento fungicida utilizado foi eficaz no controle dos patógenos, embora não os erradicasse totalmente (Tabela 5). Vale ressaltar ainda que os fungos provavelmente tenham sido trazidos do campo pelas sementes ou tenham infestado ou infectado as sementes durante o processo de extração. Segundo (Christensen, 1973), alguns fungos são capazes de invadir as sementes durante o seu desenvolvimento, após a maturidade e na colheita. TABELA 4. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas com fungicidas e com diferentes teores de água, no início do armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

	Teores de água (%)									
Tratamento fungicida	44	29	16	6						
Com	33	23	21	12						
Sem	16	13	4	5						

TABELA 5. Resultados médios (%) de fungos determinados no início do armazenamento pelo teste de sanidade em sementes de *Citromelo Swingle* tratadas e sem tratamento fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.

		Sement	e tratada		S	Semente r	ião tratad	а
		Teor de	e água (%))		Teor de	água (%))
Fungo	44	29	16	6	44	29	16	6
Fusarium sp.	0	20	1	1	58	96	96	86
Alternaria sp.	4	21	0	3	55	81	51	51
Phoma sp.	0	4	0	0	43	33	16	12
Drechslera sp.	1	0	0	1	12	25	21	5
Aspergillus sp.	0	1	1	0	4	27	8	3
Penicillium sp.	0	1	1	0	1	1	3	2

Nas Figuras de 1 a 4 estão apresentados os resultados médios obtidos no teste de germinação, das sementes de *Citromelo Swingle*, com e sem tratamento fungicida, acondicionadas com diferentes teores de água em diferentes tipos de embalagens, aos dois meses de armazenamento em armazém convencional e câmara fria, avaliados por meio de intervalo de confiança.

Após dois meses de armazenamento convencional (Figura 1a), as porcentagens de germinação das sementes tratadas e acondicionadas em embalagem impermeável com teores de água de 44% e 29% foram de 45% e 39%, não diferindo entre si. No entanto, esses valores foram superiores aos observados para as sementes com menores teores de água. Os valores de germinação das sementes que não receberam tratamento fungicida, com exceção daquelas armazenadas em embalagem impermeável com teor de água de 29%, foram nulos. Esse fato indica a necessidade de tratamento fungicida nessas sementes no momento do armazenamento, uma vez que as sementes não tratadas se encontravam com alta incidência de patógenos em relação às sementes tratadas (Tabela 6). Evidências sobre essa afirmação foram observadas por (Hong & Ellis, 1995).

Em relação às sementes armazenadas em câmara fria e seca (Figura 1b), após dois meses de armazenamento, em geral, os valores de germinação das sementes foram superiores aos observados para aquelas armazenadas em armazém convencional (Figura 1a). Observa-se ainda que as sementes tratadas e acondicionadas com 44% e 29% de teor de água em embalagem impermeável apresentaram, respectivamente, germinação de 95%, e 89%, não diferindo estatisticamente entre si. O teor de água dessas amostras no segundo mês de armazenamento foram respectivamente 45,88% e 28,97% (Tabela 3). Observouse ainda pela análise sanitária das sementes, após dois meses de armazenamento (Tabela 7), que a infestação das sementes pelos fungos dos gêneros *Fusarium* sp. e *Alternaria* sp. nas sementes correspondentes a esses tratamentos foi menor comparada à observada em sementes com 16% e 6% de teor de água. No entanto, parece claro que a intolerância à dessecação foi a principal causa da redução na qualidade fisiológica das sementes dessa espécie. Portanto, ficou evidente a característica recalcitrante das sementes de *Citromelo Swingle* e a necessidade de ambiente refrigerado para a sua conservação.

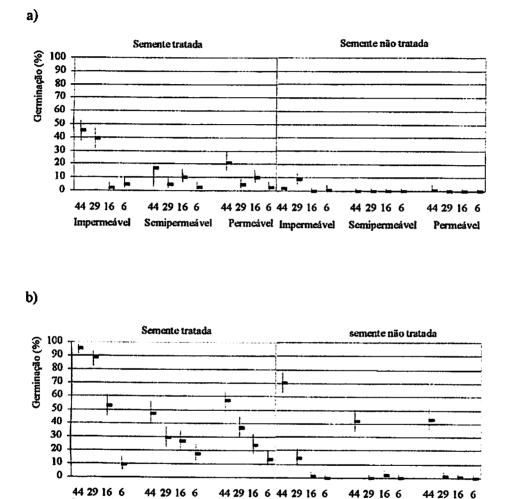


FIGURA 1. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens após dois meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.

Permeável Impermeável

Semipermeável

Permeável

Impermeável

Semipermeável

TABELA 6. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen), observados aos dois meses de armazenagem convencional em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

. . .

					•	Tipo	de er	nbala	agem				
		Imp	berme	eável		Semipermeável				Permeável			
Tratamento fungicida	Fungo	44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	6
	Fus	2	15	1	1	9	11	1	3	7	6	0	2
	Alt	2	19	1	1	3	0	0	15	6	2	0	0
Com	Pho	3	0	6	5	1	1	4	2	0	4	7	7
	Dre	0	0	0	1	0	0	0	2	0	3	0	0
	Asp	0	7	0	1	0	0	0	2	0	1	0	1
	Pen	4	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	Fus	97	95	64	91	70	89	77	84	91	65	80	80
	Alt	15	11	38	49	26	23	13	32	54	31	13	10
Sem	Pho	16	2	29	0	23	9	20	15	14	15	33	35
	Dre	0	0	30	1	34	23	20	17	20	42	12	68
	Asp	5	66	32	2	2	15	19	1	2	29	9	1
	Pen	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Hong & Ellis (1995) relataram que, em geral, a manutenção do teor de água (em torno de 40%) em sementes de citros armazenadas em embalagem de polietileno à temperatura de 2 a 4 °C e na presença de fungicida permitem a manutenção de sua viabilidade por vários anos.

Mungomery, Agnew & Prodonoff (1966), também afirmaram que a viabilidade de sementes de tangerina cleópatra (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento por longos períodos, desde que conservadas com alto teor de água (acima de 40%) e em temperaturas de 5 a 10°C.

•	
۰.	
+	
1	

TABELA 7. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen), observados aos dois meses de armazenagem em câmara fria em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

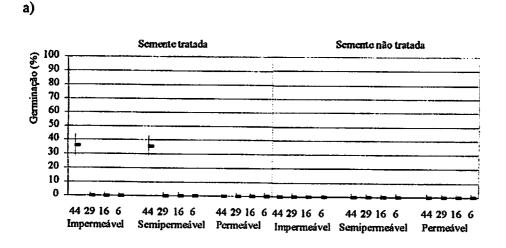
						Tipo	de ei	nbal	agem	1			
		Im	berm	eável	l	Se	mipe	ermea	ivel	Permeável			
Tratamento fungicida	Fungo	44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	6
	Fus	4	8	30	26	3	11	1	1	1	13	0	3
	Alt	5	9	16	9	0	1	0	0	0	1	1	0
Com	Pho	3	2	1	1	0	4	3	4	3	0	8	0
	Dre	0	0	0	1	0	0	0	1	0	9	1	1
	Asp	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Pen	0	25	18	4	0	0	0	1	0	0	1	0
	Fus	85	97	50	52	57	87	70	70	63	79	70	6
	Alt	10	20	30	4	13	34	4	25	11	39	9	5
Sem	Pho	10	25	21	64	33	31	8	10	33	27	20	28
	Dre	0	2	20	1	7	38	10	11	15	37	8	61
	Asp	1	6	11	0	0	4	5	1	3	2	5	1
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0

Os valores de germinação das sementes que não foram submetidas ao tratamento fungicida (Figura 1b) foram menores em relação aos observados para as sementes tratadas. Mesmo nessas condições, os valores de germinação das sementes armazenadas com 44% de umidade nos três tipos de embalagens foram superiores em relação aos observados para sementes com menores teores de água, apesar da alta incidência de fungos (Tabela 7). Aparentemente os microrganismos presentes nas sementes tiveram menor atividade metabólica nas condições de câmara fria, em conseqüência da baixa temperatura, propiciando maiores valores de germinação quando comparados com os observados nas sementes armazenadas em armazém convencional.

Vale ressaltar que houve um aumento nos valores de germinação das sementes armazenadas em câmara fria e em embalagem impermeável (Figura Ib) em relação aos valores observados no início do armazenamento (Tabela 4). Provavelmente, nessas condições, pode ter ocorrido quebra de dormência das sementes. Em pré-testes realizados com sementes de alface semeadas em substrato umedecido com extrato triturado provenientes da testa e do tegma de sementes de *Citromelo Swingle*, foram observadas reduções de 88% nos valores de germinação das sementes de alface semeadas em substrato contendo testa e de 100% quando foram semeadas em substrato com tegma.

Aos quatro meses de armazenamento, a maioria das amostras de sementes que se encontrava em condições não controladas (Figura 2a) teve o seu potencial de germinação nulo, com exceção daquelas tratadas e acondicionadas nas embalagens impermeável e semipermeável com 44% de teor de água, nas quais os valores de germinação foram em torno de 35%. Podese observar também que para as sementes tratadas, não houve incidência acentuada dos microorganismos nas sementes (Tabela 8). Ficou caracterizado, portanto, o efeito das condições de temperatura e umidade relativa do ambiente de armazenamento e do tipo de embalagem sobre a qualidade das sementes. Para sementes não tratadas, a germinação foi nula, o que pode ser atribuído à alta incidência de fungos em todas as amostras, aliada às condições ambientais de armazenamento. A temperatura e umidade relativa média no armazém convencional foram 21,86°C e 68,01% (Tabela 1A).

Em condições de armazenagem em câmara fria, aos quatro meses (Figura 2b), houve aparente redução na viabilidade das sementes, comparandose aos valores observados no segundo mês de armazenamento (Figura 1b). Os valores de viabilidade das sementes tratadas ou não e armazenadas com 44% de teor de água e em embalagem impermeável foram em torno de 80%, sendo superiores estatisticamente àqueles observados para as sementes acondicionadas



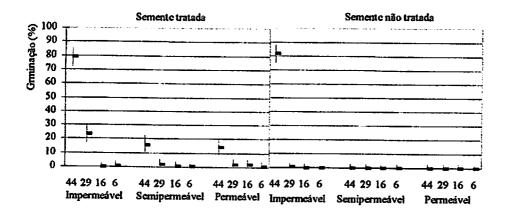


FIGURA 2. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após quatro meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.

TABELA 8. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen), observados aos quatro meses de armazenagem convencional em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

				Tipo de embalagem rmeável Semipermeável Permeável 29 16 6 44 29 16 6 3 4 1 4 10 0 5 1 4 0 0 1 2 0 2 1 0 5 0 1 0 0										
		Imp	erme	eável		Se	mipe	rmeá	vel		Permeável			
Tratamento fungicida	Fungo	44	29			44	29	16		44	29			
	Fus	8	3	4	1	4	10	0	5	1	4	0	0	
	Alt	3	1	2	0	2	1	0	5	0	1	0	0	
Com	Pho	11	5	3	1	1	0	0	0	0	1	0	8	
	Dre	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	
	Asp	1	1	2	1	0	0	0	3	0	3	0	2	
	Pen	0	5	3	0	0	0	0	2	0	2	0	0	
	Fus	90	88	70	76	49	92	83	81	87	52	88	61	
	Alt	10	6	32	10	2	17	15	20	46	16	13	2	
Sem	Pho	20	0	33	28	46	7	11	9	6	11	15	20	
	Dre	0	0	20	27	7	20	11	9	9	21	21	20	
	Asp	5	61	26	2	1	19	25	5	5	25	9	4	
	Pen	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	

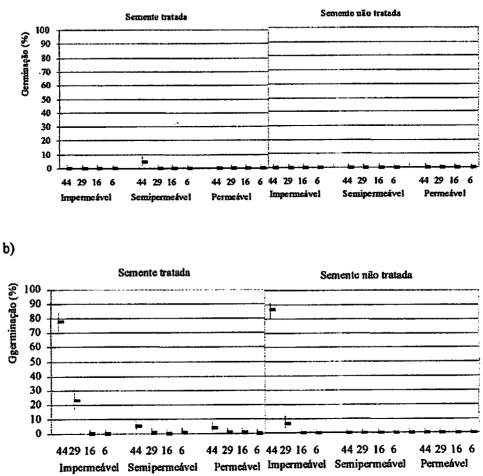
com teores de água inferiores e em embalagens semipermeável e permeável. Isso caracterizou o comportamento recalcitrante das sementes de *Citromelo Swingle* durante o armazenamento, fato que reforça a afirmação de King e Roberts (1979) de que as sementes de citros possuem comportamento recalcitrante durante o armazenamento. Além desse aspecto, vale ressaltar que nas sementes não tratadas e acondicionadas com 44% de teor de água em embalagem impermeável, foi observada alta incidência de patógenos nas sementes (Tabela 9). No entanto, essa incidência de patógenos parece não ter contribuído para a redução nos valores de germinação, em virtude provavelmente da menor atividade metabólica dos fungos nessas condições, como relatado anteriormente. Esse comportamento também foi observado aos seis meses de armazenamento.

TABELA 9. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen), observados aos quatro meses de armazenagem em câmara fria em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

			1986 A. A. 1999 A. 1			Гіро	de en	nbala	gem				
		Imp	erme	eável		Semipermeável				Permeável			
Tratamento	Fungo	44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	6
	Fus	9	21	23	18	0	2	0	0	0	9	0	0
	Alt	0	11	12	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Com	Pho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Asp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pen	19	22	23	9	0	0	0	0	2	0	0	0
	Fus	83	95	92	29	61	75	74	72	48	54	72	71
	Alt	6	11	15	0	8	17	0	26	9	41	0	0
Sem	Pho	8	9	21	29	22	9	2	11	23	18	8	18
	Dre	0	0	11	0	0	29	2	11	7	19	9	29
	Asp	3	5	10	0	0	5	7	2	6	4	4	0
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0

No sexto mês de armazenamento em condições de armazenagem convencional, a germinação das sementes foi nula, independentemente do tratamento fungicida (Figura 3a). Isso reforça o efeito da temperatura ambiente na conservação das sementes, cujo valor médio no sexto mês de armazenamento foi de 22,32 °C (Tabela 1A), aliado à ação dos microrganismos (Tabela 10).

Nessas condições, a atividade metabólica dos fungos parece ter contribuído para a redução da qualidade fisiológica das sementes.



a)

FIGURA 3. Resultados médios de germinação (%) de sementes de *Citromelo* Swingle sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após seis meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001. De acordo com (King & Roberts, 1979), mesmo com altos teores de água, as sementes recalcitrantes tendem a mostrar uma longevidade comparativamente curta em virtude do efeito da temperatura ambiente. Além disso, Roberts (1972) relatou que as sementes de *Citrus* spp. são consideradas problemáticas com relação ao armazenamento e que o período de armazenamento dessas sementes não é bem definido.

Segundo (Delouche & Baskin, 1973), a redução do potencial de armazenamento é uma das manifestações do processo de deterioração, que culmina com a redução do poder germinativo e morte da semente. A velocidade de deterioração de sementes durante o armazenamento é influenciada por fatores, dos quais os mais importantes são a umidade e temperatura do ar, taxa de crescimento dos patógenos, condição fisiológica inicial da semente e sua característica genética.

Com relação ao armazenamento em câmara fria (Figura 3b), as sementes com teor de água de 44% em embalagem impermeável tiveram os valores de germinação mantidos tanto na presença de fungicida (78%) como na ausência (87%), quando comparados aos observados no quarto mês de armazenamento (Figura 2b). Aos seis meses de armazenamento, sementes não tratadas apresentaram alta incidência de patógenos, mesmo em condições de câmara fria (Tabela 11). De acordo com (Bewley & Black, 1994), os fungos de campo têm sua incidência reduzida durante o armazenamento. Os autores abordaram ainda que a taxa de multiplicação das populações de fungos durante o armazenamento depende de diversos fatores, como a temperatura e a umidade relativa do ar. Na presente pesquisa, tanto em condições de câmara fria como de ambiente, esses fungos sobreviveram. No entanto, a atividade metabólica desses fungos parece ter sido diferenciada nesses ambientes, como já abordado anteriormente. Além disso, esses fungos podem ter atividade saprofítica durante o armazenamento.

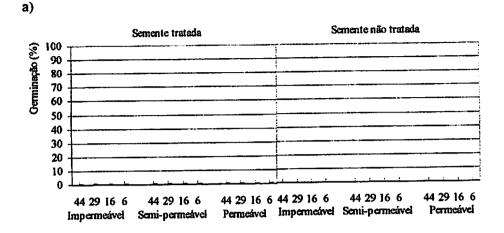
TABELA 10. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen) observados aos seis meses de armazenagem convencional em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

					•	Гіро	de er	nbala	igem				* <u>-</u>	
		Imp	erme	eável		Se	mipe	rmeá	vel	el Permeável				
Tratamento fungicida	Fungo	44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	6	
	Fus	6	0	0	2	0	6	0	7	0	1	0	0	
	Alt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Com	Pho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	Asp	2	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	
	Pen	0	4	3	0	0	.0	0	0	0	0	0	0	
	Fus	86	79	7 1	52	69	53	37	42	54	51	73	59	
	Alt	5	2	11	5	0	5	0	8	11	2	7	0	
Sem	Pho	12	0	36	17	35	19	18	19	19	16	22	9	
	Dre	0	0	5	18	2	25	15	12	2	16	14	6	
	Asp	6	0	32	9	3	16	16	5	22	19	11	8	
	Pen	0	42	29	2	0	0	1	0	0	0	2	2	

No oitavo mês de armazenamento convencional (Figura 4a), como era esperado, a germinação das sementes de todos os tratamentos foi zero, independente do uso ou não de fungicida. Isso evidenciou o efeito da temperatura e umidade relativa do ambiente, os quais foram, em média, 22,24°C e 68,05% (Tabela 1A), aliado à incidência de patógenos nessas condições (Tabela 12). Na armazenagem em câmara fria e seca (Figura 4b) merece destaque, mais uma vez, o acondicionamento das sementes em embalagem impermeável com teor de água de 44%, pois, mesmo sob a ação de alguns microrganismos (Tabela 13), as sementes não tratadas e tratadas mantiveram os seus valores de germinação praticamente inalterados.

TABELA 11.	Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen) observados aos seis meses de armazenagem
	em câmara fria em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de
	água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

		Tipo de embalagem											
	Fungo	Impermeável				Semipermeável					Pern	ieáve	l
Tratamento fungicida		44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	(
	Fus	9	20	5	7	0	1	0	0	2	11	4	
	Alt	4	28	0	0	0	0	0	0	0	1	0	(
Com	Pho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	Asp	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	1	
	Pen	0	21	8	3	0	0	0	5	0	0	0	
	Fus	71	89	80	45	49	68	73	71	57	87	72	ĥ
	Alt	0	0	15	17	7	15	I	17	16	29	13	
Sem	Pho	59	7	19	18	27	10	0	15	35	19	12	1
	Dre	0	0	15	0	9	11	2	13	11	27	11	2
	Asp	0	0	13	5	0	0	11	12	0	2	5	
	Pen	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1



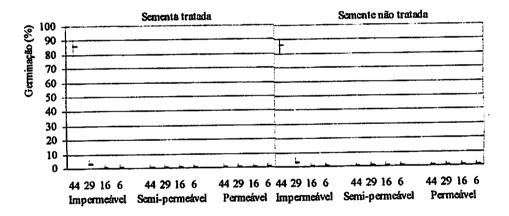


FIGURA 4. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após oito meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.

TABELA 12. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e Penicillium sp. (Pen), observados aos oito meses de armazenagem convencional em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

				**	7	Гіро	de en	nbala	gem				
		Imp	erme	ável		Se	mipe	rmeá	vel		Perm	eáve	[
Tratamento fungicida	Fungo	44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	6
	Fus	58	0	1	1	0	4	0	8	0	2	0	0
	Alt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Com	Pho	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Dre	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Asp	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pen	Ō	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Fus	74	58	69	37	71	65	20	31	32	57	67	54
	Alt	0	0	0	3	0	3	1	3	1	7	4	0
Sem	Pho	6	0	42	25	40	29	47	51	23	33	25	19
2411	Dre	Ō	0	0	15	3	29	17	25	7	24	16	7
	Asp	7	44	45	16	4	27	14	6	28	17	9	7
	Pen	0	0	36	3	1	9	1	0	0	0	4	2

Diante dos resultados observados, para adequada conservação de sementes de *Citromelo Swingle*, é necessário que as mesmas sejam armazenadas com teor de água em torno de 40%, em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. Isso reforça os resultados de (Mungomery, Agnew & Prodonoff, 1966), os quais mostraram que a viabilidade de sementes de Tangerina cleópatra (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento, desde que conservadas com teor de água acima de 40% e em temperaturas de 5 a 10 °C. Também (Nawer & Carson, 1985) afirmaram que a manutenção da qualidade fisiológica de sementes de citros durante o armazenamento depende

da espécie, do tipo de embalagem e das condições de pré e durante a armazenagem.

De modo geral, observou-se uma tendência natural de redução do potencial de germinação das sementes ao longo do armazenamento, e essa redução praticamente não ocorreu nas sementes acondicionadas em embalagem impermeável com 44% de umidade, e armazenadas em câmara fria.

 TABELA 13. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), *Phoma* sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp) e *Penicillium* sp. (Pen) observados aos oito meses de armazenagem em câmara fria em sementes de Citromelo Swingle tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e teores de

água. UFLA, Lavras - MG, 2001.

		Tipo de embalagem											
	Fungo	Impermeável				Semipermeável				Permeável			
Tratamento fungicida		44	29	16	6	44	29	16	6	44	29	16	6
	Fus	15	9	1	6	0	2	0	0	1	7	7	5
	Alt	26	24	0	0	0	0	0	0	1	9	0	0
Com	Pho	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	C
	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
	Asp	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	1	3
	Pen	0	19	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0
	Fus	27	87	75	76	22	52	71	71	36	75	74	74
	Alt	0	0	15	18	11	8	4	11	11	35	26	1
Sem	Pho	56	7	20	15	31	8	0	20	27	21	13	2
	Dre	0	0	30	17	9	9	8	16	6	30	14	1
	Asp	0	0	14	17	0	9	19	15	1	3	7	3
	Pen	0	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

6.1.3 Germinação das sementes após o envelhecimento artificial

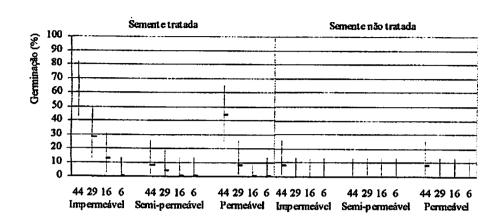
Na Tabela 14 encontram-se os resultados médios de germinação de sementes de Citromelo *Swingle* envelhecidas artificialmente, no início da armazenagem. Como ocorrido no teste de germinação, a viabilidade das sementes reduziu à medida que o seu teor de água foi reduzido. Por outro lado, os valores de germinação, após o envelhecimento, das sementes tratadas e com 44% de teor de água foram superiores aos observados no teste de germinação realizado nessa mesma época (Tabela 4). Isso pode ser em conseqüência do efeito da temperatura empregada no teste de envelhecimento (42°C), a qual pode ter contribuído para a quebra da dormência das sementes. Pode ter ocorrido, ainda, a eliminação de patógenos que poderiam estar associados a essas sementes.

TABELA 14. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle envelhecidas artificialmente, tratadas e sem tratamento fungicida e com diferentes teores de água, no início do armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Tratamento fungicida	Teores de água (%)								
	44	29	16	6					
Com	62	42	29	10					
Sem	19	14	5	5					

Em algumas espécies tem sido observado ainda efeito do "priming" nas sementes submetidas ao envelhecimento artificial. Ribeiro (2000) avaliando o desempenho de sementes de algodão submetidas ao condicionamento osmótico, após serem envelhecidas artificialmente, verificou aumento nos valores de germinação das sementes da cultivar *Delta Pine 90*, em relação às não envelhecidas, no segundo e quarto mês de armazenamento. O autor atribuiu esse comportamento a possibilidade de ter ocorrido o "priming" durante o envelhecimento artificial das sementes.

Os resultados obtidos no teste de envelhecimento artificial durante o armazenamento estão apresentados nas Figuras 5 a 8. Sementes armazenadas com 44% de teor de água, as quais foram tratadas com fungicida e acondicionadas em embalagem impermeável, após dois meses em armazém convencional, apresentaram valores de germinação após o envelhecimento superiores aos observados para as sementes com 16% e 6% de teor de água (Figura 5a). No entanto, não houve diferença estatística entre os valores observados para as sementes com 29%, 16% e 6% de teor de água. Considerando o tipo de embalagem utilizada e o teor de água das sementes, observou-se que sementes armazenadas com teores de água abaixo de 29% apresentaram valores de germinação estatisticamente semelhantes. independentemente do tipo de embalagem utilizada. No entanto, os valores observados para sementes com 44% de teor de água e acondicionadas em embalagem impermeável foram superiores aos demais tratamentos, não diferenciando apenas daqueles observados em sementes com 29% de teor de água e acondicionadas em embalagem impermeável. Deve-se ressaltar que as embalagens semipermeável e permeável permitem a troca de vapor de água entre o ambiente e as sementes. Assim, de acordo com os valores de teor de água das sementes no segundo mês de armazenamento (Tabela 2), esses se encontravam entre 8,5% e 10,5%, justificando a redução significativa nos valores de germinação, em decorrência do comportamento de recalcitrância dessas sementes, como já discutido anteriormente.



a)

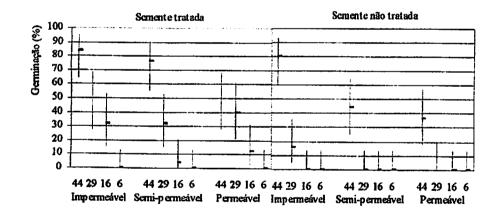
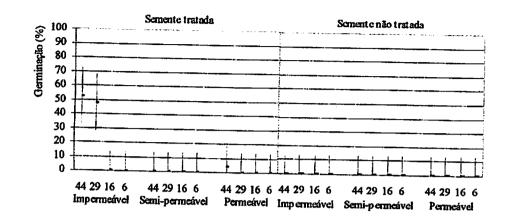


FIGURA 5. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle, envelhecidas artificialmente, sob diferentes tratamentos fungicida, teores de água e embalagens, após dois meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.

No segundo mês de armazenagem em câmara fria (Figura 5b), os valores de germinação das sementes tratadas e envelhecidas artificialmente, observados para sementes com 44% de teor de água e acondicionadas em embalagens impermeável e semipermeável, foram superiores aos observados para os demais tratamentos, não diferenciando daqueles observados em sementes com 29% de teor de água nos três tipos de embalagens. Para as sementes não tratadas, maiores valores foram observados em sementes acondicionadas com 44% de teor de água nos três tipos de embalagens, e os valores de germinação daquelas acondicionadas nas embalagens impermeável e permeável e com teores de água inferiores a 44% não diferenciaram estatisticamente entre si.

Aos quatro meses, em condições de armazenagem não controladas (Figura 6a), observou-se que, independentemente do tipo de embalagem utilizada, os valores de germinação das sementes tratadas e armazenadas com teores de água abaixo de 29% foram nulos. No entanto, os valores observados para sementes tratadas, com 44% e 29% de teor de água e acondicionadas em embalagem impermeável foram superiores aos demais tratamentos; porém, não diferindo entre si estatisticamente. Com relação ao armazenamento em câmara fria (Figura 6b), destaca-se a amostra de semente tratada e embalada com 44% de teor de água em embalagem impermeável, por apresentar valor de germinação após o envelhecimento em torno de 96%. Os valores de germinação das demais amostras com teores de água abaixo de 29% foram nulos, independentemente do tipo de embalagem utilizada. No lote de sementes não tratadas, o maior valor de germinação observado (77%) também foi aquele em que as sementes foram acondicionadas com 44% de teor de água em embalagem impermeável. Os demais valores foram nulos.



a)

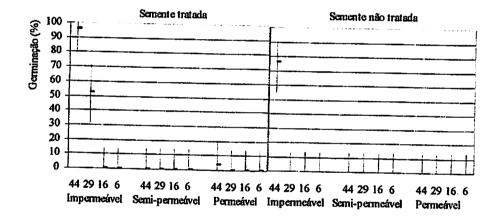
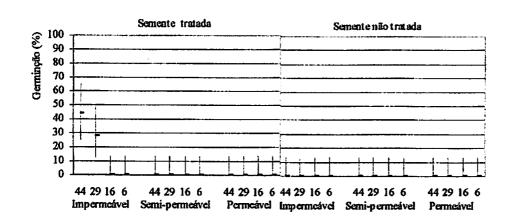


FIGURA 6. Resultados médios de germinação (%) de sementes de *Citromelo Swingle*, envelhecidas artificialmente, sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após quatro meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001. Aos seis meses de armazenagem convencional (Figura 7a), independentemente do tipo de embalagem utilizada, os valores de germinação das sementes tratadas e armazenadas com teores de água abaixo de 29% foram nulos. No entanto, os valores observados para sementes com 44% e 29% de teor de água e acondicionadas em embalagem impermeável foram superiores aos observados para os demais tratamentos, não diferenciando entre si. Os valores de germinação das sementes não tratadas foram nulos, considerando todos os tipos de embalagens e teores de água.

Considerando a armazenagem em câmara fria no sexto mês (Figura 7b), independente do tratamento fungicida e do tipo de embalagem, sementes armazenadas com teores de água de 29% apresentaram valores de germinação menores do que 20%, e as amostras com teores de água abaixo de 29% tiveram germinação nula. Já os valores observados para sementes acondicionadas em embalagem impermeável com 44% de teor de água, fossem tratadas ou não, apresentaram valores de germinação em torno de 71% e de 80%.

No decorrer do oitavo mês de armazenamento em armazém convencional (Figura 8a), independentemente do tratamento fungicida, tipo de embalagem e teor de água, os valores de germinação foram nulos. Considerando a armazenagem em câmara fria (Figura 8b), os resultados obtidos apresentaram o mesmo comportamento em relação ao sexto mês.

De acordo com os resultados obtidos no teste de envelhecimento artificial, há necessidade de que as empresas produtoras de sementes de citros adotem em seus programas de controle de qualidade outros testes, além do de germinação. Comparando os resultados desse teste com aqueles observados no teste de germinação verificou-se que o teste de envelhecimento artificial também foi sensível para verificar o comportamento das sementes quanto a tolerância à dessecação.



a)

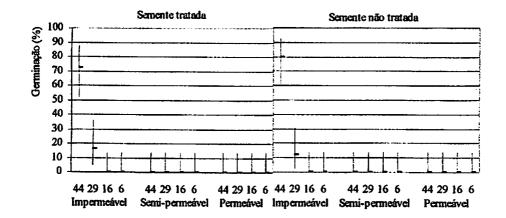
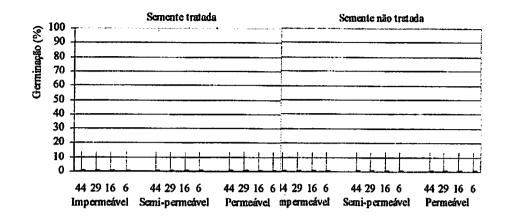


FIGURA 7. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle, envelhecidas artificialmente, sob diferentes tratamentos, teores de água e acondicionadas em embalagens, após seis meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.



a)

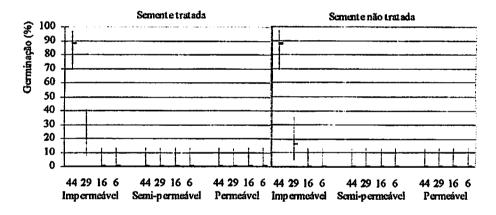


FIGURA 8. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Citromelo Swingle, envelhecidas artificialmente, sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após oito meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001. Segundo (França Neto *et al.* 1986), o teste de germinação é realizado sob condições ideais; portanto, não é capaz de detectar o nível de deterioração das sementes, classificando-as como germináveis ou não. Carvalho (1986) relatou que o teste de envelhecimento artificial tem se mostrado bastante sensível em detectar pequenas diferenças entre os tratamentos, sendo indicado para avaliar o potencial de armazenamento das sementes. Como observado no teste de germinação, os patógenos parecem ter interferido no vigor das sementes após serem submetidas ao teste de envelhecimento artificial, principalmente quando as mesmas não foram tratadas com fungicidas e armazenadas em condição ambiente.

6.1.4 Teste de Emergência em Bandejas

Na Tabela 15 encontram-se os resultados médios de plântulas emersas de sementes de *Citromelo Swingle* no início do armazenamento. Menores valores de emergência de plântulas foram observados à medida que o teor de água das sementes foi reduzido. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos no teste de germinação (Tabela4).

TABELA 15	. Resul	tados	s méd	ios	de plâi	ntulas e	emersa	is ('	%) d	e se	mentes	de
	Citron	ielo 🛛	Swing	le ti	ratadas	e sem	tratar	nen	to fu	ngic	ida e c	om
	teores	de	água	de	44%,	29%,	16%	e	6%,	no	início	do
	armaze	mam	ento.	UFL	A, Lav	тas-MC	3, 200 1	۱.				

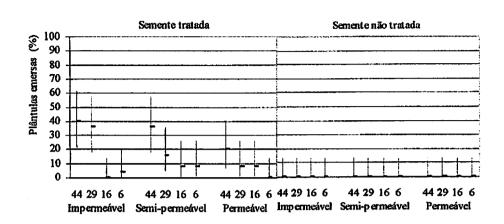
Tratamento fungicida	Teores de água (%)								
	44	29	16	6					
Com	34	34	29	2					
Sem	21	25	6	0					

Em embalagem semipermeável, não houve diferença nos valores observados em sementes com 29, 16 e 6%. Para as sementes não tratadas, aquelas acondicionadas com 44% de teor de água nos três tipos de embalagens apresentaram valores superiores aos observados para as sementes armazenadas com 29, 16 e 6%.

Aos quatro meses, em condições de armazenagem convencional (Figura 10a), observou-se que os valores de emergência de plântulas das sementes tratadas e armazenadas em embalagem impermeável foram superiores quando as mesmas foram armazenadas com 44% e 29% de teor de água, cujos valores não diferenciaram entre si. No entanto, não foi observada diferença estatística nos valores de emergência de plântulas provenientes de sementes com diferentes teores de água e armazenadas em embalagens semipermeável e permeável. Já para as sementes não tratadas, os valores de emergência de plântulas foram nulos, para todos os tratamentos.

O comportamento das sementes tratadas e armazenadas em câmara fria (Figura 10b) praticamente foi similar ao observado no segundo mês de armazenamento. Em relação ao lote de sementes não tratadas maiores valores de plântulas emersas (80%) foram observados em sementes acondicionadas com 44% de teor de água em embalagem impermeável. Isso reforça a afirmação de (King & Roberts, 1979) de que as sementes de citros possuem comportamento recalcitrante durante o armazenamento. Os demais tratamentos foram iguais estatisticamente, independentemente do tipo de embalagem e do teor de água das sementes utilizados.

Aos seis meses (Figura 11a), considerando a armazenagem convencional, o tipo de embalagem utilizada e o teor de água das sementes, observou-se que não houve diferença estatística dos dados, os quais apresentaram germinação praticamente nula, tanto para sementes tratadas quanto para as não tratadas. Isso revelou o efeito da temperatura ambiente na



a)

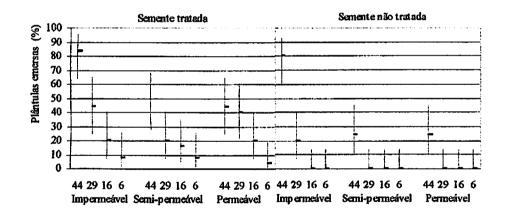
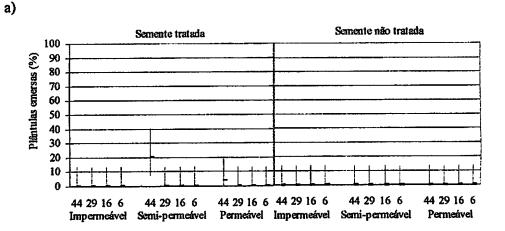


FIGURA 10. Resultados médios de plântulas emersas (%) de sementes de *Citromelo Swingle*, sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após quatro meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.



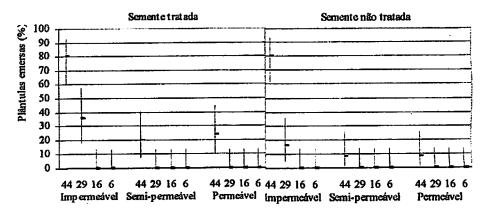


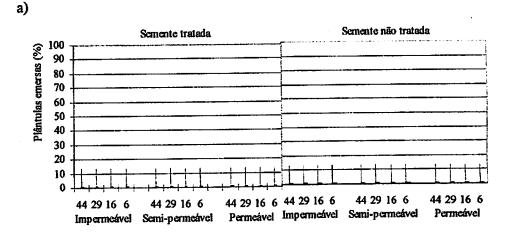
FIGURA 11. Resultados médios de plântulas emersas (%) de sementes de *Citromelo Swingle* sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após seis meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.

conservação das sementes. King & Roberts (1979) comentaram que sementes recalcitrantes, mesmo armazenadas com altos teores de água, apresentam uma longevidade curta por causa do efeito da temperatura ambiente.

Considerando a armazenagem em câmara fria e embalagem impermeável (Figura 11b), independente do tratamento fungicida, maiores valores de emergência (80%) foram observados em sementes armazenadas com teor de água de 44%. No entanto, os valores observados para os demais tratamentos correspondentes ao armazenamento em embalagem semipermeável e permeável não diferiram entre si, sendo que os valores de emergência de plântulas das sementes armazenadas com teores de água de 29, 16 e 6% foram nulos.

No decorrer do oitavo mês de armazenamento em armazém convencional (Figura 12a), independentemente do tratamento fungicida, do tipo de embalagem e do teor de água, as sementes apresentaram valores de emergência nulos. Na armazenagem em câmara fria (Figura 12b), independente do tratamento fungicida, as melhores condições para o armazenamento das sementes foram em embalagem impermeável e com teor de água de 44%.

Fazendo-se uma análise dos resultados obtidos nos três testes utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica, verificou-se que as melhores condições para a manutenção da viabilidade das sementes de *Citromelo Swingle*, durante os oito meses de armazenamento, foram aquelas nas quais as sementes foram acondicionadas em embalagem impermeável com 44% de teor de água e armazenadas em câmara fria e seca. Portanto, fica evidente a característica recalcitrante das sementes de *Citromelo Swingle* e a necessidade de ambiente refrigerado para a sua conservação. Além disso, recomenda-se o tratamento fungicida das sementes no momento do armazenamento, uma vez que as sementes encontravam-se com alta incidência de patógenos quando recém-colhidas.



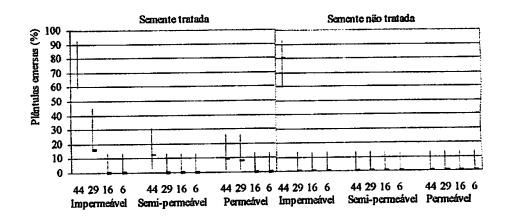


FIGURA 12. Resultados médios de plântulas emersas (%) de sementes de *Citromelo Swingle* sob diferentes tratamentos, teores de água e embalagens, após oito meses de armazenamento em armazém convencional (a) e câmara fria e seca (b). UFLA, Lavras - MG, 2001.

Os microrganismos presentes na semente apresentaram menor atividade metabólica nas condições de câmara fria por causa da baixa temperatura, propiciando maiores valores de germinação quando comparados com os observados nas sementes armazenadas em armazém convencional. Mesmo nas condições de câmara fria, nas quais a atividade metabólica desses fungos parece ser menor, o tratamento fungicida traz maior segurança na manutenção da qualidade fisiológica durante o armazenamento, uma vez que existem riscos quanto à manutenção da temperatura em ambiente refrigerado.

Assim, as condições que garantem sementes de boa qualidade para a formação de mudas em épocas que sejam mais oportunas ao citricultor são aquelas nas quais as sementes são acondicionadas com alto teor de água e em embalagem que não permita troca de vapor de água entre as sementes e o ambiente. Além disso, devem ser mantidas em ambiente refrigerado, sendo necessário o tratamento fungicida das sementes no momento do armazenamento. Nessas condições, é possível manter a qualidade fisiológica das sementes por mais tempo, de modo a ampliar o período para a formação de mudas, além de disponibilizar sementes com qualidade, caso haja necessidade de replantios nos viveiros. Além desse aspecto, essas condições de armazenamento para a espécie em referência poderão ser utilizadas em bancos de germoplasma.

Ressalta-se ainda a necessidade de se adotar mais de um teste para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, trazendo maior segurança na obtenção dos dados que irão orientar as decisões nos programas de controle de qualidade de sementes nas empresas produtoras de sementes e de mudas de *Citromelo swingle*.

6.2. Qualidade das sementes de Limão Cravo durante o armazenamento

6.2.1 Teor de água das sementes

Os resultados médios dos teores de água das sementes, determinados no inicio do armazenamento aos três, seis e nove meses, para cada tratamento e ambiente de armazenamento (de acordo com a Tabela 1), estão apresentados nas Tabelas 16 e 17.

Aos três meses de armazenamento, sementes acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável entraram em equilíbrio higroscópico com o ambiente em que se encontravam, pelo fato de essas embalagens permitirem troca de vapor de água com o ambiente. Esse comportamento foi mantido até o nono mês de armazenamento, salientando-se que os valores de teores de água a partir do sexto mês de armazenamento mantiveram-se praticamente constantes para todos os tratamentos (Tabelas 16 e 17).

Com relação às amostras acondicionadas em embalagem impermeável, foi observada redução nos teores de água das sementes no terceiro mês, em proporções muito inferiores às observadas nas embalagens semipermeável e permeável. Essa redução pode ser explicada pelo fato de ocorrer, equilíbrio de umidades das sementes no interior da embalagem ou pode ter ocorrido, mesmo em pequena proporção, troca de vapor de água entre as sementes e o meio nesse tipo de embalagem plástica.

Os teores de água das sementes acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável, durante o armazenamento sob condições controladas e não controladas (Tabelas 16 e 17), não excedeu 11,05%. Deve-se ressaltar que a umidade relativa média detectada no interior do armazém e da câmara fria durante o armazenamento foi de 67,71% e 50% (Tabela 1A).

TABELA 16. Resultados médios de teor de água (%) de sementes de *Limão* Cravo sob diferentes tratamentos aos zero, três, seis e nove meses de armazenamento em armazém convencional. UFLA, Lavras, MG, 2001.

1 # 77 <u>1</u> 100			Épocas de armaz	enamento (mês)	
TF	Е –	0	3	6	9
	I	44	39,91	38,48	39,57
	I	27	25,00	23,40	20,78
	Ī	13	11,00	10,43	9,43
	Ī	9	8,64	8,97	9,10
	SP	44	10,88	8,85	8,79
	SP	27	10,10	9,26	8,49
Com	SP	13	8,90	9,27	8,45
	SP	9	8,74	8,75	8,52
	P	44	11,05	8,70	8,57
	P	27	9,36	8,94	8,23
	P	13	8,54	8,97	7,67
	P	9	8,41	8,59	7,66
	I	44	38,95	37,85	38,54
	I	27	25,37	23,49	21,19
	I	13	11,00	9,48	9,14
	I	9	8,33	8,54	8,81
	SP	44	10,26	8,81	7,79
	SP	27	10,04	8,94	7,75
	SP	13	9,87	8,64	7,72
Sem	SP	9	10,62	8,88	7,86
	P	44	10,46	8,35	8,18
	P	27	10,48	8,93	7,51
	P	13	9,78	8,93	7,94
	P	9	10,67	8,48	7,96

TF - tratamento fungicida

E - tipo de embalagem

I - impermeável

SP - semipermeável

P - permeável

TABELA 17. Resultados médios de teor de água (%) de sementes de Limão
Cravo sob diferentes tratamentos aos zero, três, seis e nove meses
de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras, MG,
2001.

			Épocas de arma:	zenamento (mês)	
TF	E	0	3	6	9
	I	44	40,88	39,97	38,77
	Ι	27	25,68	26,64	22,07
	Ι	13	12,25	9,91	8,18
	I	9	8,13	8,27	7,66
	SP	44	8,57	7,05	7,18
	SP	27	8,30	7,05	7,10
Com	SP	13	8,18	7,34	7,22
	SP	9	7,11	7,40	8,07
	Р	44	8,97	7,30	7,12
	Р	27	8,05	7,40	6,60
	Р	13	6,91	7,54	7,13
	Р	9	7,64	7,02	7,39
	Ι	44	42,43	40,03	37,11
	I	27	24,37	21,92	19,79
	Ι	13	10,24	8,30	8,04
	I	9	8,50	7,75	7,45
	SP	44	7,91	6,87	6,83
	SP	27	8,54	6,93	6,77
	SP	13	7,60	7,17	7,20
Sem	SP	9	6,75	7,21	6,93
	Р	44	8,59	7,12	7,06
	Р	27	8,48	7,18	7,13
		7,01	7,37	7,08	
	Р	9	7,91	7,02	7,52

64

TF - tratamento fungicida

E - tipo de embalagem

I - impermeável

\$* • · *

SP - semipermeavel

P - permeável

Nas embalagens semipermeável e permeável, os teores de água das sementes foram menores em condições de câmara fria, devido à menor umidade relativa nesse ambiente.

6.2.2. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária das sementes no início do armazenamento

Pelo resumo da análise de variância dos dados observados nos testes de germinação e vigor no início do armazenamento (Tabela 2A) houve efeito significativo para tratamento fungicida, nos três testes, e para o teor de água das sementes, nos testes de de envelhecimento artificial e de emergência em bandeja. Maiores valores de germinação foram observados em sementes tratadas com fungicidas (Tabela 18). Esses resultados também foram observados no teste de envelhecimento artificial e emergência de plântulas (Tabelas 19 e 20), embora nesses casos os valores de germinação das sementes com teor de água de 9% tenham sido menores. Isso pode ser explicado pelos dados da Tabela 21, na qual estão expressos os resultados médios da incidência de fungos nas sementes no início do armazenamento, com maiores valores para as sementes não tratadas.

O teor de água das sementes de *Limão Cravo* não influenciou os valores de germinação no início do armazenamento (Tabela 18). Esses resultados, a princípio, comparados com os observados para as sementes de *Citromelo Swingle* (Tabela 4), evidenciam que sementes de *Limão cravo* não possuíam comportamento recalcitrante. No entanto, no teste de envelhecimento artificial e no de emergência de plântulas menores, valores foram observados nas sementes com 9% de teor de água, não havendo diferença estatística entre os valores observados para as sementes com 44, 27 e 13% de teor de água (Tabelas 19 e 20).



TABELA 18. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Limão Cravo tratadas e sem tratamento fungicida e com teores de água de 44, 27, 13 e 9%, no início do armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001.

	······	Teores de água (%)										
	44	27	13	9	Média							
Semente tratada	91	91	91	91	91 A							
Semente não tratada	89	86	84	87	87 B							
Média	90 a	89 a	88 a	89 a								

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

TABELA 19. Resultados médios de germinação (%) de sementes de Limão Cravo, envelhecidas artificialmente, tratadas e sem tratamento fungicida e com teores de água de 44, 27, 13 e 9%, no início do armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001.

		Teores d			
	44	27	13	9	Média
Semente tratada	94	97	95	84	93 A
Semente não tratada	91	91	88	69	85 B
Média	93 a	94 a	92 a	77 b	

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Em trabalho realizado por (Roberts, 1972) foi observado que sementes de citros podem ter comportamento recalcitrante durante o armazenamento. No

entanto, outros autores observaram que sementes de várias espécies de Citrus spp. têm comportamento intermediário com relação a tolerância à dessecação.

TABELA 20. Resultados médios de plântulas emersas (%) de sementes de Limão Cravo, tratadas e sem tratamento fungicida e com teores de água de 44, 27, 13 e 9%, no início do armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001.

<u>44</u> 89	27	13	9	Média
89				INICUIA
	87	88	75	85 A
79	86	81	63	77 B
84 a	87 a	84 a	69 b	
_				

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

TABELA 21. Resultados médios (%) de fungos, determinados pelo teste de sanidade no início do armazenamento, em sementes de *Limão Cravo* tratadas e sem tratamento fungicida e com diferentes teores de água. UFLA, Lavras-MG, 2001.

***************************************		Semente	tratada		Semente não tratada						
Fungo		Teores d	e água (%)		Teores de água (%)					
	44	27	13	9	44	27	13	9			
Fusarium sp.	0	0	0	I	4	15	6	17			
Alternaria sp.	4	0	0	2	17	0	7	0			
Phoma sp.	2	0	1	0	16	46	25	51			
Drechslera sp.	0	0	0	0	21	3	8	7			
Aspergillus sp.	1	0	0	1	9	0	0	0			
Penicillium sp.	0	0	0	0	8	0	0	0			
Cladosporium sp	. 0	0	0	0	77	51	96	62			

Pelos dados observados nos três testes para avaliação da qualidade fisiológica no início do armazenamento, ressalta-se a importância da utilização de outros testes, além do de germinação, nos programas de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes de citros. O teste-padrão de germinação é realizado em condições favoráveis e, por isso, não detecta o estádio de deterioração das sementes e, com freqüência, não estima com segurança o desempenho das mesmas em condições de campo e também o potencial de armazenamento (França Neto *et al.* 1986).

6.2.3. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária das sementes durante o armazenamento

Pelos resultados do resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes de germinação e de vigor em sementes de *Limão Cravo* durante o armazenamento em condições ambiente (Tabelas 3A, 4A e 5A), foram observadas diferenças significativas para todos os fatores avaliados e para as interações, com exceção, para o fator tratamento fungicida, observado nos três testes, para a interação tratamento fungicida x embalagem, nos testes de envelhecimento artificial e emergência em bandeja, e para a interação tratamento fungicida x embalagem x umidade, no teste de emergência em bandejas (Tabela 4A).

Os valores de germinação das sementes acondicionadas nas diferentes embalagens e com diferentes teores de água e tratadas com fungicidas não diferiram entre si, aos três meses de armazenamento (Tabela 22). No entanto, para as sementes não tratadas com fungicidas e acondicionadas em embalagens impermeável e semipermeável, maiores valores de germinação foram observados em sementes com 44% de teor de água. Para as armazenadas em embalagem de pano, menores valores foram observados em sementes armazenadas com 27%. No entanto, vale ressaltar que os teores de água das sementes acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável aos três meses de armazenamento variaram de 9,78% a 10,67% (Tabela 16), valores esses geralmente inferiores àqueles em que as sementes foram acondicionadas no início do armazenamento, por causa da troca de vapor de água entre as sementes e o ambiente, em função do tipo de embalagem.

TABELA 22. Resultados médios (%) de germinação de sementes de Limão Cravo, obtidos sob diferentes embalagens, teores de água, tratamentos e períodos de armazenamento em armazém convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

			Épocas	de armaze	enamento	(mês)	
	-	3		(6		9
	Teor de	T'	NT ²	T	NT	Т	NT
Embalagem	água (%)					_	
	44	91 A a	91 A a	89 A a	80 A a	88 A a	0 B b
Impermeável	27	82 A a	77 B a	86 A a	80 A a	65 B a	5 A b
•	13	79 A a	47 C b	32 B a	8 B b	20 D a	0 B b
	9	82 A a	68 B b	17 C a	7 B b	24 C a	0 B b
Semi	44	75 A a	62 A b	11 B a	2 B b	0 B a	0 A a
permeável	27	68 A a	46 B b	22 B a	2 B b	0Ba	0 A a
•	13	76 A a	50 B b	24 B a	6 B b	0 B a	0 A a
	9	79 A a	55 B b	32 A a	18 A b	lAa	1 A a
	44	75 A a	57 A b	29 A a	9 B b	0 B a	0 A a
Permeável	27	73 A a	41 B b	27 A a	4 B b	1 B a	0 A a
	13	80 A a	55 A b	40 A a	11 A b	0 B a	0 A a
	9	68 A a	59 A b	42 A a	15 A b	4 A a	2 A a

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas para cada embalagem e minúsculas nas linhas para cada época não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

¹Semente tratada

²Semente não tratada

As sementes não tratadas com fungicidas encontravam-se com maiores incidências de fungos, principalmente do gênero *Fusarim, Phoma e Cladosporium* (Tabela 23). A presença desses fungos, associados às sementes, dificulta a análise dos fatores que estão sendo considerados.

TABELA 23. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp), Penicillium sp. (Pen) e Cladosporium sp. (Cla), observados em sementes de Limão Cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água aos três meses de armazenagem convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

1997 (c.) 1.9						Тіро	de er	nbala	igem				
		Imp	permo	eável		Se	mipe	rmeá	vel		Perm	neáve	;l
Tratamento fungicida	Fungo	44	27	13	9	44	27	13	9	44	27	13	9
	Fus	0	0	0	0	0	1	5	2	1	0	0	0
	Alt	0	0	0	0	3	4	5	0	1	0	0	0
	Pho	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
Com	Dre	0	0	0	0	2	3	4	0	1	0	0	0
	Asp	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cla	3	1	0	1	1	1	2	3	0	0	0	0
	Fus	8	12	7	13	6 .	1	9	7	22	12	7	9
	Alt	0	10	0	3	6	7	5	1	20	5	0	3
	Pho	8	16	18	24	11	28	17	16	10	21	18	23
Sem	Dre	0	0	4	9	1	8	7	4	2	0	4	9
	Asp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cla	25	12	59	69	91	87	74	67	81	72	95	85

Aos seis meses de armazenamento (Tabela 22), em sementes tratadas e não tratadas com fungicidas e acondicionadas em embalagem impermeável,

foram observados menores valores de germinação com a redução do teor de água das sementes. Barton (1943) observou que em *C. aurantium* L. (laranja azeda), a dessecação de 44% para 3,8% de teor de água reduziu a viabilidade de 90% para 22%.

maiores valores de germinação em sementes Verificou-se acondicionadas em embalagem semipermeável submetidas ao tratamento fungicida ou não, quando acondicionadas com 9% de teor de água (Tabela 22). No entanto, a diferença nos valores de teor de água das sementes durante as avaliações foi de 2%, portanto, bem inferior quando comparada ao início do armazenamento (Tabela 16). Observou-se, ainda, de maneira geral, que a incidência de fungos como Fusarium sp. e Alternaria sp. foi menor nas sementes acondicionadas com 9% de teor de água (Tabela 24). Provavelmente os maiores valores de teores de água podem ter favorecido o desenvolvimento dos fungos. Os valores de germinação referentes às sementes tratadas e acondicionadas em embalagem permeável com diferentes teores de água não diferenciaram entre si (Tabela 22). Esse comportamento provavelmente ocorreu em virtude da homogeneização nos valores de teor de água nesse tipo de embalagem (Tabela 16). Para as sementes não tratadas e armazenadas nessas condições, maiores valores foram observados para as sementes acondicionadas com 13 e 9% (Tabela 22). Provavelmente, esse comportamento esteja associado à menor incidência de Phoma sp. nas sementes com 13% e 9% (Tabela 24).

Os resultados observados aos nove meses de armazenamento para as sementes tratadas e armazenadas em embalagem impermeável, em geral foram semelhantes aos observados no sexto mês de armazenamento, ou seja, sementes com 44% de teor de água apresentaram-se com maiores valores de germinação em relação às sementes com menores teores de água (Tabela 22). Nessas mesmas condições, a germinação foi praticamente nula em sementes não tratadas com fungicidas. Para as sementes armazenadas em embalagem

semipermeável e permeável, independentemente do tratamento fungicida e teor de água, foram observados valores de germinação praticamente nulos.

TABELA 24. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp), Penicillium sp. (Pen) e Cladosporium sp. (Cla), observados em sementes de Limão Cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água aos seis meses de armazenagem convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

					•	Гіро	de er	nbala	gem	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •			
		Imp	erme	eável		Se	mipe	rmeá	vel		Регп	neáve	1
Tratamento fungicida	Fungo	44	27	13	9	44	27	13	9	44	27	13	9
	Fus	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	2
	Alt	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	2
	Pho	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
Com	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
	Asp	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
	Pen	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cla	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	Fus	10	12	74	0	45	7	8	5	3	0	8	0
	Alt	0	0	0	1	11	8	9	1	12	8	0	0
	Pho	2	15	35	60	19	45	5	6	33	48	0	5
Sem	Dre	0	0	0	19	9	7	0	0	4	16	0	0
	Asp	0	1	45	13	0	3	0	0	0	3	72	2
	Pen	Ō	Ō	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Cla	10	5	0	45	51	73	75	61	53	49	0	71

Mungomery, Agnew & Prodonoff (1966) afirmaram que a viabilidade de sementes de tangerina cleópatra (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento por longos períodos, desde que conservadas com alto teor de água (acima de 40%) e em temperaturas de 5 a 10 °C. Também (Hong & Ellis, 1995) relataram que, em geral, sementes de citros armazenadas com teor de água em torno de 40%, em embalagem de polietileno, em temperatura entre 2 a 4 °C e na presença de fungicida, tiveram a viabilidade mantida por vários anos.

Quanto ao tratamento das sementes com fungicidas, no terceiro e sexto meses de armazenamento, quando as sementes foram acondicionadas em embalagem impermeável e com os teores de água de 44% e 27%, não houve diferença estatística entre os valores de germinação, independentemente do tratamento fungicida. No entanto, para os demais tratamentos, sementes tratadas apresentaram maiores valores de germinação. Isso pode ser explicado pelos valores médios de infestação de fungos nas sementes não submetidas ao tratamento fungicida (Tabelas 23, 24 e 25). Desse modo, ressalta-se a importância do tratamento fungicida, principalmente quando há interesse por parte da empresa em armazenar as sementes por um período maior.

Quanto à incidência de fungos, aos nove meses de armazenamento, observou-se que nas sementes tratadas, independentemente do seu teor de água e do tipo de embalagem, a incidência de fungos foi inferior à observada nas sementes não tratadas, indicando a eficácia do tratamento fungicida (Tabela 25).

Vale ressaltar ainda que as sementes de *Limão Cravo* comportaram-se como recalcitrantes a partir do terceiro mês de armazenamento. Essa afirmação é baseada nos resultados obtidos nas sementes armazenadas em embalagem impermeável, na qual se teve um controle maior do teor de água das sementes durante o armazenamento. Observou-se ainda que nas sementes armazenadas em embalagens semipermeável e permeável, as quais permitiram troca de vapor de água entre as sementes e o ambiente, os valores de germinação foram praticamente nulos no nono mês de armazenamento, independentemente do tratamento fungicida. Já nas sementes acondicionadas em embalagem impermeável e com teores de água de 44 e 27%, os valores de germinação

observados foram de 88 e 65% (Tabela 22). Vale ressaltar que a temperatura e a umidade relativa médias do ar durante o armazenamento foram 22,48 °C e 67,71% (Tabela 1A), condições essas que podem ter contribuído para a redução da viabilidade das sementes.

TABELA 25. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp), Penicillium sp. (Pen) e Cladosporium sp. (Cla), observados em sementes de Limão Cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com teores de água aos nove meses de armazenagem convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

					7	Гіро	de en	nbala	gem				
		Imp	erme	avel		Se	mipe	rmeá	vel		Perm	ieáve	1
Tratamento fungicida	Fungo	44	27	13	9	44	27	13	9	44	27	13	9
	Fus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Alt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Pho	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
Com	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0
	Asp	2	1	1	0	0	0	1	5	6	0	0	0
	Pen	1	1	0	1	2	0	1	5	6	2	0	0
	Cla	1	1	0	1	0	0	1	2	7	1	0	0
	Fus	25	13	0	0	15	2	5	1	2	0	0	0
	Alt	1	2	0	0	15	2	5	1	2	0	0	0
	Pho	26	23	42	51	5	19	5	1	30	12	0	0
Sem	Dre	0	0	0	11	0	0	0	1	0	16	0	0
	Asp	0	10	42	11	0	3	0	1	0	0	40	1
	Pen	5	0	10	2	8	3	0	1	2	2	0	2
	Cla	0	2	9	40	52	73	63	61	72	29	0	57

Conforme (Toledo & Marcos filho, 1977), a respiração é a causa primária de esgotamento de reservas embrionárias, de alterações na estrutura

protéica e de inativação enzimática. Desse modo, os autores sugerem baixos valores de temperatura e de umidade relativa do ar como agentes para reduzir a intensidade do processo respiratório e como solução para preservar a qualidade fisiológica das sementes. O teor de água da semente depende da umidade relativa do ar na qual a semente está armazenada. Altas umidades relativas do ar são prejudiciais, em virtude do fenômeno da higroscopicidade.

Com relação à germinação das sementes armazenadas em câmara fria e seca, nas tabelas 6A, 7A e 8A estão apresentados os resultados do resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes de germinação e vigor em sementes de *Limão Cravo*. Foram observadas diferenças significativas para todas os fatores avaliados e para as interações, com exceção, para a interação tratamento fungicida x teor de água nos testes de germinação e envelhecimento artificial no terceiro mês de armazenamento (Tabela 6A). No sexto mês de armazenamento fungicida, no teste de emergência em bandeja, para embalagem, nos testes de germinação e envelhecimento fungicida no teste de emergência em bandeja, para embalagem, nos testes de germinação e envelhecimento fungicida nos testes de germinação tratamento fungicida, no teste de emergência em bandeja, para embalagem, nos testes de germinação e envelhecimento fungicida x embalagem, nos testes de germinação e envelhecimento artificial.

Pelos resultados do teste de germinação aos três meses de armazenamento (Tabela 26), observou-se em sementes tratadas ou não com fungicidas e acondicionadas em embalagem impermeável menores valores de germinação quando as mesmas foram secadas a teores de água abaixo de 27%, ressaltando que não houve diferença estatística entre os valores de germinação para as sementes com 44% e 27% de teor de água nesse tipo de embalagem.

Para sementes tratadas com fungicidas e acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável, aos três meses de armazenamento, a redução no teor de água das sementes não influenciou nos valores de germinação durante o armazenamento. No entanto, no terceiro mês de armazenamento, sementes que não foram submetidas ao tratamento fungicida e acondicionadas em embalagem

TABELA 26. Resultados médios de germinação de sementes de Limão Cravo, observados sob diferentes embalagens, teores de água, tratamentos fungicidas e períodos de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras - MG, 2001.

			Épocas	de armaze	enamento	(mês)	
		3		(5		9
	Teor de	<u> </u>	NT ²	T	NT	T	NT
Embalagem	água (%)						
	44	90 A a	82 A a	88 A a	86 A a	87 A a	89 A a
Impermeável	27	94 A a	82 A b	84 A a	73 A a	86 A a	71 A b
-	13	77 B a	59 B b	74 A a	36 C b	75 A a	29 C b
	9	79 B a	62 B b	77 A a	54 B b	31 B b	47 B a
	44	78 A a	32 C b	77 A a	76 A a	85 A a	50 A b
Semi	27	84 A a	61 A b	81 A a	59 B b	72 A a	50 A b
permeável	13	89 A a	51 B b	89 A a	63 B b	86 A a	60 A b
•	9	86 A a	66 A b	79 A a	61 B b	30 B b	54 A a
	44	82 A a	68 A b	87 A a	69 A b	89 Aa	60 A b
Permeável	27	80 A a	57 A b	82 A a	46 B b	84 A a	50 A b
	13	78 A a	62 A b	90 A a	68 A b	87 A a	55 A b
	9	82 A a	68 A b	79 A a	63 A b	80 A a	53 A b

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas para cada embalagem e minúsculas nas linhas para cada época não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

¹Semente tratada

²Semente não tratada

semipermeável, apresentaram maiores valores de germinação quando armazenadas com 27% e 9% de teor de água (Tabela 26). Nessa época, o teor de água da sementes não tratadas e armazenadas em embalagem semipermeável oscilou entre 6,75 e 8,54% (Tabela 17). Pelos dados de incidência de patógenos (Tabela 27), observa-se que esses resultados não foram influenciados pelos fungos, uma vez que as sementes com teor de água de 9% tiveram índices mais elevados de *Phoma* sp. do que nas sementes dos demais tratamentos. Em sementes acondicionadas em embalagem permeável, a redução no teor de água não influenciou nos valores de germinação aos três meses de armazenamento. Vale ressaltar que, nessa época, o teor de água das sementes acondicionadas em embalagem permeável variou de 7,91% a 8,59% (Tabela 17), valores esses geralmente inferiores àqueles em que as sementes foram acondicionadas no início do armazenamento, por causa da troca de vapor de água entre as sementes e o ambiente.

TABELA 27. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp), Penicillium sp. (Pen) e Cladosporium sp. (Cla), observados em sementes de Limão Cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água aos três meses de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras -MG, 2001.

		1999 (1997) 1999 (1997) 1999 (1997)		Tipo de embalagem Impermeável Semipermeável Permeável												
		Imp	berme	eável		Se	mipe	rmeá	vel		Pern	neáve	1			
Tratamento fungicida	Fungo	44	27	13	9	44	27	13	9	44	27	13	9			
	Fus	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0			
	Alt	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0			
	Pho	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0			
Com	Dre	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0			
	Asp	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0			
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	Cla	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0			
	Fus	3	2	5	9	17	9	6	7	15	9	0	5			
	Alt	0	0	12	1	4	1	2	1	15	3	0	0			
	Pho	3	9	0	18	9	18	11	11	5	23	0	12			
Sem	Dre	0	0	1	2	1	2	2	1	1	0	0	0			
	Asp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	Pen	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	Cla	31	41	17	45	86	44	66	61	86	71	93	75			

Aos seis meses de armazenamento, para sementes tratadas, a redução no teor de água não influenciou nos valores de germinação, independentemente do tipo de embalagem utilizada (Tabela 26). No entanto, para sementes não tratadas e acondicionadas em embalagem impermeável, maiores valores de germinação foram observados em sementes com 44% e 27% de teor de água, os quais não diferenciaram entre si. Já para sementes não tratadas e acondicionadas em embalagem semipermeável, a redução no teor de água abaixo de 44% reduziu significativamente os valores de germinação. Em relação às amostras não tratadas e acondicionadas em embalagem permeável, menor valor foi observado em sementes secadas a 27% de teor de água. Os teores de água das sementes não tratadas e embaladas nas embalagens semipermeável e permeável variaram de 6,87% a 7,37% (Tabela 17). Em diferentes níveis de hidratação, por causa de propriedades termodinâmicas da mudança da água, diferentes processos metabólicos podem ocorrer (Vertucci & Farrant, 1995). Em sementes com teores de água altos, o metabolismo ocorre normalmente e as sementes podem germinar. No nível de hidratação entre -3 e -1,5 MPa, a síntese de proteínas e ácidos nucleicos, junto com a respiração, é possível, mas há água insuficiente para o crescimento celular e germinação. Em teores de água reduzido, a síntese de proteínas e ácidos nucléicos não são possíveis, mas alguma respiração pode ser detectada.

Vale ressaltar que a partir do sexto mês de armazenamento o comportamento recalcitrante das sementes de *Limão Cravo* foi mais pronunciado em condições ambientais do que em câmara fira (Tabelas 22 e 26). De acordo com (King & Roberts, 1979), mesmo com altos teores de água, as sementes recalcitrantes tendem a mostrar uma longevidade comparativamente curta em virtude do efeito da temperatura ambiente.

No decorrer do nono mês de armazenamento, a germinação das sementes tratadas e acondicionadas nas embalagens impermeável e

semipermeável somente foi influenciada à medida que o teor de água das sementes foi reduzido para 9%. Já para amostras tratadas e acondicionadas em embalagem permeável, a redução do teor de água das sementes não influenciou nos valores de germinação. Esse comportamento também foi observado em sementes não tratadas, independente da embalagem, com exceção daquelas armazenadas em embalagem impermeável com 13% e 9% de teor de água, as quais apresentaram menores valores de germinação. Provavelmente essas sementes estavam com o sistema de membranas desestruturado, fazendo com que a mesma perdesse sua capacidade de regular o fluxo de entrada e saída de água e solutos, no momento que foram colocadas para germinar.

Sementes de citros são comumente armazenadas sob refrigeração e em sacos de polietileno, favorecendo a sua conservação por períodos maiores sem perdas apreciáveis de viabilidade (Hong & Ellis, 1995). Segundo (Nauer & Carson, 1985), a manutenção da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento depende de fatores, tais como espécie, tratamento de préarmazenagem, condições de armazenagem e tipo de embalagem.

Quanto ao efeito do tratamento fungicida das sementes, no terceiro mês de armazenamento, somente quando as sementes foram acondicionadas em embalagem impermeável e com 44% de teor de água, os valores de germinação das sementes tratadas ou não com fungicidas foram estatisticamente iguais. O mesmo ocorreu no sexto e nono mês de armazenamento para algumas amostras que foram acondicionadas em embalagem impermeável e semipermeável (Tabela 22). Portanto, ficou caracterizada a importância do tratamento fungicida das sementes no momento da armazenagem, mesmo quando as sementes foram armazenadas em câmara fria (Tabelas 27, 28 e 29).

Christensen (1973) comenta que 13,5% é a umidade acima da qual as sementes apresentam maiores riscos de serem infectadas por fungos de armazenamento. Sementes com 17 a 19% de umidade na presença de fungos,

armazenadas entre 15 e 30 °C, perdem rapidamente sua viabilidade. O autor abordou ainda que a redução do teor de água das sementes é um método efetivo para evitar o desenvolvimento de fungos. No entanto, na presente pesquisa, de uma maneira geral, a redução no teor de água das sementes não foi suficiente para evitar o desenvolvimento dos fungos.

TABELA 28. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp), Penicillium sp. (Pen) e Cladosporium sp. (Cla), observados em sementes de Limão Cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água aos seis meses de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras -MG, 2001.

		Tipo de embalagem												
		Imp	berm	eável		Se	mipe	rmeá	ivel		Регп	neáve	<u>,</u>	
Tratamento	Fungo	44	27	13	9	44	27	13	9	44	27	13	9	
fungicida				-	-									
\	Fus	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
	Alt	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
	Pho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Com	Dre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Asp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cla	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	
	Fus	1	1	10	1	3	11	5	7	2	2	5	5	
	Alt	0	0	0	14	3	11	5	3	9	2	0	0	
	Pho	2	3	12	27	4	14	6	19	30	15	6	5	
Sem	Dre	1	0	0	13	0	0	0	4	0	0	0	0	
	Asp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Pen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cla	10	28	27	82	75	52	66	96	53	55	77	69	

TABELA 29. Resultados médios (%) de Fusarium sp. (Fus), Alternaria sp. (Alt), Phoma sp. (Pho), Drechslera sp. (Dre), Aspergillus sp. (Asp), Penicillium sp. (Pen) e Cladosporium sp. (Cla), observados em sementes de Limão Cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água aos nove meses de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras - MG, 2001.

1996 - 14 40 - 16 16 16 16 16 - 16 - 2 41 12 19 16 17 5 5 16 16 16		Tipo de embalagem											
		Impermeável				Semipermeável			Permeável				
Tratamento fungicida	Fungo	44	27	13	9	44	27	13	9	44	27	13	9
	Fus	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	Alt	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	Pho	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Com	Dre	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	Asp	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	4
	Pen	0	1	0	1	5	6	0	6	0	0	0	4
	Cla	0	0	2	1	2	4	2	5	0	0	0	0
	Fus	1	9	10	5	10	8	1	2	0	0	0	0
	Alt	0	0	9	0	2	9	11	2	5	11	0	0
	Pho	2	2	0	0	7	0	0	1	15	11	6	10
Sem	Dre	0	0	0	1	0	6	0	0	0	0	1	0
	Asp	0	8	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
	Pen	0	5	5	1	0	0	1	2	1	0	5	6
	Cia	5	21	2	71	69	66	74	78	59	32	77	52

Os resultados observados no teste envelhecimento artificial durante o armazenamento em armazém convencional encontram-se na Tabela 30. Nas sementes tratadas com fungicidas, a redução no teor de água das sementes foi acompanhada de redução no vigor das sementes apenas quando foram acondicionadas em embalagem impermeável, durante os nove meses de armazenamento. Esse comportamento foi observado também em sementes não tratadas e acondicionadas em embalagem impermeável aos três e seis meses de armazenamento. Nas mesmas condições, no nono mês, sementes com 27% de teor de água tiveram maiores valores de germinação. Vale ressaltar que esse comportamento das sementes de *Limão Cravo* foi observado também no teste de emergência (Tabela 31). Pela Tabela 25 observa-se que o nível de infestação ou infecção de patógenos não variou substancialmente, a ponto de poder explicar o comportamento dessas sementes.

TABELA 30. Resultados médios de vigor de sementes de Limão Cravo, envelhecidas artificialmente, observados sob diferentes embalagens, teores de água, tratamentos e períodos de armazenamento em armazém convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

an a	***	Épocas de armazenamento (mês)								
	-	3			6	9				
	Teor de	T	NT ²	Т	NT	Т	NT			
Embalagem	água (%)									
Impermeável	44	89 A a	92 A a	89 A a	89 A a	79 A a	0 B b			
	27	92 A a	83 A a	84 A a	81 A a	61 B a	46 A b			
	13	48 B a	36 B a	9 B a	5 B a	1Ca	0 B a			
	9	36 B a	39 B a	0 C a	2 B a	1 C a	0 B a			
Semi	44	63 A a	17 B b	2 A a	1 A a	0 A a	1 A a			
permeável	27	59 A a	16 B b	1 A a	1 A a	0 A a	1 A a			
F -	13	55 A a	21 B b	0 A a	0 A a	0 A a	1 A a			
	9	51 A a	41 A b	2 A a	2 A a	2 A a	2 A a			
Permeável	44	72 A a	23 B b	2 A a	1 A a	3 A a	2 A a			
I CITICA VOI	27	62 A a	27 B b	2 A a	1 A a	2 A a	2 A a			
	13	74 A a	35 B b	2 A a	1 A a	2 A a	2 A a			
	9	65 A a	45 A b	5 A a	7 A a	1 A a	5 A a			

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas para cada embalagem e minúsculas nas linhas para cada época não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

¹Semente tratada

²Semente não tratada

TABELA 31. Resultados médios de plântulas emersas (%) de sementes de *Limão Cravo* observados sob diferentes embalagens, teores de água, tratamentos e períodos de armazenamento em armazém convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

-+		Épocas de armazenamento (mês)									
	-	3		(<u>5</u>	9					
	Teor de	 T'	NT ²	Т	NT	Т	NT				
Embalagem	água (%)										
	44	90 A a	90 A a	78 A a	73 A a	76 A a	1 B b				
Impermeável	27	85 A a	85 A a	72 A a	67 A a	59 B a	43 A b				
•	13	65 B a	36 C b	3 B a	1 B a	1 C a	1 B a				
	9	68 B a	52 B b	0 B a	2 B a	0 C a	0 B a				
Semi	44	69 A a	34 B b	1 A a	2 A a	1 A a	0 A a				
permeável	27	63 A a	31 B b	0 A a	1 A a	1 A a	1 A a				
•	13	65 A a	35 B b	2 A a	l A a	1 A a	0 A a				
	9	64 A a	46 A b	4 A a	4 A a	1 A a	2 A a				
Permeável	44	72 A a	35 B b	2 A a	3 A a	lAa	0 B a				
	27	66 A a	19 C b	5Aa	3 A a	1 A a	0 B a				
	13	67 A a	44 A b	5Aa	3 A a	3 A a	2 A a				
	9	70 A a	53 A b	8 A a	9 A a	3 A a	4 A a				

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas para cada embalagem e minúsculas nas linhas para cada época não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

¹Semente tratada

²Semente não tratada

Tanto no teste de envelhecimento artificial (Tabela 30) como no de emergência de plântulas (Tabela 31), maiores valores de germinação foram observados em sementes acondicionadas nas embalagens semipermeável e permeável, quando armazenadas com 9% de teor de água e não submetidas ao tratamento fungicida, no terceiro mês de armazenamento. Para sementes tratadas ou não com fungicidas e acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável, também nos dois testes citados, no sexto e nono mês de armazenamento, não foi observada diferença estatística entre os valores de germinação de sementes acondicionadas com diferentes teores de água (Tabelas 30 e 31). A baixa germinação pode ser atribuída à presença de fungos nas sementes (Tabelas 24 e 25), à redução do teor de água das mesmas e às condições de temperatura e umidade relativa do ar do ambiente de armazenamento. Deve-se ressaltar que os teores de água das amostras acondicionadas nessas embalagens variou de 8,35 a 11,05% (Tabela 16).

No terceiro mês de armazenamento, no teste de envelhecimento artificial (Tabela 30), não houve interferência do tratamento fungicida no vigor das sementes armazenadas em embalagem impermeável, independentemente do teor de água das sementes. No entanto, no teste de emergência (Tabela 31), maiores valores de plântulas emersas foram observados em sementes com 13% e 9% quando submetidas ao tratamento com fungicidas. Para os demais tratamentos no terceiro mês de armazenamento, em ambos os testes, maiores valores de germinação foram verificados em sementes tratadas. No sexto e nono mês de armazenamento, os valores de vigor das sementes tratadas foram estatisticamente iguais aos das sementes não tratadas, com exceção dos valores observados para as sementes ao nono mês de armazenamento, para as quais o vigor foi maior quando se realizou o tratamento fungicida. Resultados semelhantes também foram observados no teste de emergência de plântulas (Tabelas 31).

Com relação aos resultados do teste de envelhecimento artificial (Tabela 32) e de emergência de plântulas (Tabela 33), observados em sementes armazenadas em câmara fria e seca, aos três meses de armazenamento, a redução no teor de água das sementes tratadas e acondicionadas em embalagens impermeável e semipermeável não influenciou no vigor. Para as amostras tratadas e acondicionadas em embalagem permeável, o maior valor de germinação após o envelhecimento (Tabela 32) foi observado quando as

sementes foram armazenadas com 9% de teor de água. Esse comportamento se manteve no sexto mês de armazenamento, seguindo a mesma tendência no nono mês, apesar de não ter ocorrido diferença estatística.

TABELA 32. Resultados médios de vigor de sementes de *Limão Cravo*, envelhecidas artificialmente, observados sob diferentes embalagens, teores de água, tratamentos e períodos de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras - MG, 2001.

		Épocas de armazenamento (mês)								
	-	3		e		9				
	Teor de	T ¹	NT ²	Т	NT	Т	NT			
Embalagem	água (%)									
	44	92 A a	84 A a	87 A a	92 A a	86 A a	84 A a			
Impermeável	27	87 A a	38 B b	79 A a	83 A a	79 A a	77 A a			
mperme	13	86 A a	36 B b	65 B a	37 B b	59 B a	33 B b			
	9	83 A a	41 B b	69 B a	41 B b	65 B a	41 B b			
Semi	44	68 A a	57 A b	61 A a	27 B b	61 A a	26 B b			
permeável	27	79 A a	63 A b	62 A a	30 B b	60 A a	30 B b			
F -	13	87 A a	55 A b	68 A a	63 A a	62 A a	60 A a			
	9	80 A a	59 A b	48 B a	37 B a	27 B a	36 B a			
	44	62 B a	50 A b	29 B a	28 A a	28 A a	28 A a			
Permeável	27	63 B a	50 A b	28 B a	27 A a	27 A a	31 A a			
	13	76 B a	56 A b	40 A a	22 A b	39 A a	36 A a			
	9	81 A a	63 A b	43 A a	24 A b	44 A a	22 A b			

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas para cada embalagem e minúsculas nas linhas para cada época não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

¹Semente tratada

²Semente não tratada

		Épocas de armazenamento (mês)									
	-	3			5	9					
Embalagem	Teor de água (%)	T ¹	NT ²	Т	NT	T	NT				
	44	90 A a	82 A a	88 A a	83 A a	82 A a	79 A a				
	27	89 A a	45 B a	72 A a	67 B a	71 A a	71 A a				
Impermeável	13	81 A a	50 B b	64 B a	40 C b	63 B a	37 B b				
	9	81 A a	51 B b	56 B a	56 B a	48 C a	38 B b				
	44	71 A a	34 C b	65 A a	65 A a	65 A a	45 A b				
Semi	27	78 A a	74 A a	71 A a	73 A a	62 A a	41 A b				
permeável	13	86 A a	53 B b	67 A a	67 A a	58 A a	32 B b				
F	9	82 A a	61 B b	45 B b	74 A a	32 B a	36 B a				
	44	71 A a	56 A b	74 A a	76 A a	72 A a	54 A b				
Permeável	27	54 B a	45 B b	73 A a	62 B a	67 A a	49 A b				
	13	74 A a	58 A b	76 A a	72 B a	71 A a	45 A b				
	9	81 A a	64 A b	68 A a	55 C a	60 A a	45 A b				

TABELA 33. Resultados médios de plântulas emersas (%) de sementes de *Limão Cravo* observados sob diferentes embalagens, teores de água, tratamentos e períodos de armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

¹Semente tratada

²Semente não tratada

No teste de emergência (Tabela 33) para sementes armazenadas em embalagem permeável, menor valor de plântulas emersas foi observado em sementes com 27% de teor de água. Já no sexto e nono mês, o teor de água das sementes não influenciou no número de plântulas emersas, provenientes de sementes tratadas. Deve-se observar que o teor de água das sementes no terceiro mês de armazenamento nesse tipo de embalagem variou de 6,91% a 8,97% (Tabela 17).

Aos seis meses de armazenamento, para as sementes tratadas ou não e acondicionadas em embalagem impermeável, a redução no teor de água abaixo de 27% propiciou redução no vigor (Tabela 32), e esse comportamento se manteve até aos nove meses de armazenamento. Já para sementes tratadas e acondicionadas em embalagem semipermeável aos seis e nove meses, o vigor das sementes foi reduzido quando o teor de água foi de 9%. Resultados semelhantes também foram observados no teste de emergência (Tabela 33) aos seis e noves meses, em que as sementes tratadas e armazenadas em embalagem semipermeável com 9% de teor de água apresentaram menores valores de plântulas emersas (Tabela 33). Já as sementes não tratadas e acondicionadas em embalagem semipermeável com 13% de teor de água, aos seis e nove meses, apresentaram maior vigor (Tabela 32).

Quanto ao efeito do tratamento fungicida das sementes submetidas ao teste de envelhecimento artificial (Tabela 32), observou-se que no terceiro mês o vigor das sementes tratadas foi maior em relação ao das sementes não tratadas, com exceção dos valores observados para sementes acondicionadas em embalagem impermeável e com 44% de teor de água, os quais não diferenciaram entre si. Esse comportamento foi observado aos seis e nove meses para as sementes acondicionadas em embalagem impermeável e com 44% de teores de água inferiores, houve efeito do tratamento fungicida na germinação das sementes submetidas ao envelhecimento artificial. Para sementes acondicionadas em embalagem semipermeável com 13 e 9% de teor de água, não houve efeito do tratamento fungicida aos seis e nove meses. Já para sementes armazenadas em embalagem permeável, houve efeito do tratamento fungicida em sementes com 9% de teor de água aos seis e nove meses de armazenamento.

De maneira geral, observou-se que as melhores condições para o armazenamento de sementes de *Limão Cravo*, de acordo com os resultados obtidos no teste de envelhecimento artificial, são o acondicionamento em embalagem impermeável e com teores de água acima de 27%. Quanto ao ambiente de armazenamento, as condições de câmara fria propiciaram melhor conservação da qualidade fisiológica das sementes, principalmente quando o armazenamento foi realizado por períodos maiores, como o de nove meses. No entanto, comparando-se os dados sem considerar a análise estatística, se o período de armazenamento for inferior a seis meses, essas sementes poderiam ser armazenadas em condições de armazém convencional. Vale ressaltar que a umidade relativa e a temperatura desse ambiente determinará sobremaneira a conservação dessas sementes.

Outro aspecto a ser considerado é o efeito do tratamento fungicida durante o armazenamento das sementes de *Limão Cravo*. Tanto em ambiente de câmara fria como em armazém convencional, até o sexto mês de armazenamento, não houve efeito do tratamento fungicida nas sementes acondicionadas com 44% e 27% de teor de água. No entanto, vale ressaltar que no nono mês de armazenamento, em ambiente convencional, as sementes que não foram tratadas com fungicidas apresentaram menores valores de germinação e vigor. Dessa forma, por causa da incidência de patógenos presentes nessas sementes, acredita-se que o tratamento fungicida seja uma medida de controle eficiente e segura.

Quando as sementes foram acondicionadas em embalagem impermeável e com teores de água de 44% e 27%, não houve efeito do tratamento fungicida nos valores de plântulas emersas no terceiro, sexto e nono mês de armazenamento (Tabela 33). Esse comportamento também foi observado nas sementes com 27% de teor de água sob armazenagem em embalagem semipermeável aos três meses de armazenamento. No sexto mês de

armazenamento, não houve diferença estatística nos dados de emergência de plântulas provenientes de sementes tratadas e não tratadas para todas as amostras, com exceção daquelas acondicionadas com 13% e 9% de teor de água, nas embalagens impermeável e semipermeável, respectivamente. Contudo, no nono mês, os resultados referentes ao tratamento fungicida das sementes foram semelhantes aos observados no terceiro mês de armazenamento.

Comparando-se os dados referentes à incidência de patógenos, indicados nas Tabelas 27, 28 e 29, observa-se que não houve grandes variações nos níveis de incidência dos patógenos entre as épocas em que as sementes foram avaliadas, quando armazenadas em câmara fria, que pudessem explicar os resultados obtidos. No entanto, deve-se ressaltar que os fungos sobreviveram em condições de câmara fria

Fazendo uma análise geral dos três testes utilizados e dos dois ambientes de armazenamento, as condições que permitiram a melhor conservação das sementes foram aquelas em que as sementes foram submetidas ao tratamento fungicida e acondicionadas em embalagem impermeável com teores de água de 44% e 27%. Em relação aos ambientes de armazenamento, sementes armazenadas em condições controladas apresentaram menor redução de qualidade durante o armazenamento em relação às armazenadas em condições não controladas. Esse comportamento pode ser atribuído à redução da intensidade respiratória das sementes, devido à baixa temperatura e conseqüente redução de suas atividades metabólicas, bem como dos fungos que se encontravam associados às sementes. De acordo com (Pereira, 1992), nas sementes armazenadas em condições de alta temperatura e umidade relativa do ar, as reações químicas e bioquímicas ocorrem com maior velocidade, causando denaturação das proteína, gelatinização de carboidratos e podendo também propiciar o desenvolvimento de microrganismos. Nesse sentido, (Bewley & Black, 1994) relataram que a influência da temperatura e da umidade relativa do

ar estão diretamente relacionadas com a velocidade em que os processos metabólicos ocorrem.

Além disso, a característica de recalcitrância das sementes de *Limão Cravo* foi marcante a partir de sexto mês, para as amostras acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável e armazenadas em condição ambiente, ao contrário da espécie *Citromelo Swingle*, em que essa característica manifestou-se já no início do armazenamento. Foi observado ainda que o caráter recalcitrante é mais acentuado em temperaturas mais altas. Propõe-se assim que a qualidade dos açúcares existentes na semente de *Limão Cravo* pode propiciar a tolerância à dessecação pela vitrificação do citoplasma, quando a temperatura é reduzida. O mesmo não ocorreu para as sementes de *Citromelo Swingle*.

7 CONCLUSÕES

1. As sementes de *Citromelo Swingle* comportam-se como recalcitrantes quando armazenadas tanto em condição ambiente como em câmara fria. Já para as sementes de *Limão Cravo*, esse comportamento foi marcante a partir de sexto mês de armazenamento, principalmente para as amostras acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável e armazenadas em condição ambiente.

2. As melhores condições para a conservação das sementes de *Citromelo Swingle* por oito meses são o acondicionamento com 44% de teor de água em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. As condições para a conservação das sementes de *Limão Cravo* são semelhantes às de *Citromelo Swingle*, no entanto, elas podem ser armazenadas com teores de água entre 44% e 27% por nove meses. 3. Recomenda-se também o tratamento fungicida das sementes no momento do armazenamento, para maior segurança na manutenção da qualidade fisiológica durante o armazenamento.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTON, L.V. The storage of citrus seeds. Contribuitions from Boyce Thompson Institute, Menasha, v.17, p.157-166, 1943.
- BASAVARAJAPPA, B.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes associated ageing of maize seeds. Seed Science and Technology. Zurich, v.19, n.2, p.279-286, 1991.
- BASKIN, C.C. Seed storage: biological aspects. In: SHORT COURSE FOR SEEDSMEN, 17, 1975, Mississipi. Proceedings... Mississipi: Mississipi State University, 1975, p.77-80.
- BERJACK, P.; PAMMENTER, N.W. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londria, v.12, p.22-55, Dez. 2000.
- BERJACK, P.; VERTUCCI, C.W.; PAMMENTER, N.W. Effects of developmental status ans dehydration rate on characteristcs of water ans desiccation-sensiti in recalcitrant seed of *Camellia sinensis*. Seed Science Research, Wallingford, n.3, p.155-166, Sept. 1993.
- BERJACK, P., FARRANT, J M.; PAMMENTER, N.W. Cell biology of the homoiohydrous seed condition. In: Recent advances in the development and germination of seeds (ed. R. B. Taylorson), p.89-108. Plenum Press, New York, 1990.
- BERNAL-LUGO, I.; LEOPOLD, A.C. Changes in solube carboydrates during seed storage. Plant Physiology, Rokville, v.98, n.3, p.1207-1210, Mar. 1992.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seed physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

- BONNER. F.T. Storage of seeds: potencial e limitações for germoplasm conservation. Forest Ecology Management, Amsterdan, v.35, n.1-3, p.35-43, 1990.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA-Departamento Nacional de Defesa Vegetal, CLAV, 1992. 365p.
- CARVALHO, N.M. Vigor de Sementes In: CICERO, S. M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, N.R. Atualização em produção de sementes. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.207-223.
- CARVALHO, N.M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994, p.1-30.
- CARVALHO, M.L.M.; VON PINHO, E.V.R. Armazenamento de sementes. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 67 p.
- CHRISTENSEN, C. M. Loss of viability in storage microflora. Seed Science and Technology, Zurich: v.1, n.3, p.547-562, 1973.
- COPELAND, L.D.; McDONALD, M.B. Seed vigor and vigor tests. In: __. Seed Science and Technology. 3.ed. New york: Chanpman & Hall, 1995. cap.7, p.153-181.
- COUTINHO, W.M. Uso da restrição hídrica no controle da germinação de sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade. 2000. 79p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DAHER, F.M. Produção de mudas cítricas. Brasília: Ministério da Agricultura/Coordenadoria de sementes e mudas, 1980. 19p.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerate aging techiniques for predicting the relative storability of seeds lots. Seed Science and Technology, Zurich: v.1, n.2, p.427-452, 1973.
- FARRANT, J.M.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. Recalcitrant a current assessment. Seed Science and Technology, Zurich, v.16, n.1, p.155-166, 1988.

- FARRANT, J.M. PAMMENTER, N.W. e BERJAK, P. Seed development in relation desication tolerance: A comparasion betweem desiccation – sensivite (recalcitrant) seeds of Avicennia mariana and desiccation – tolerant typs. Seed Science Research, Wallingford, v.3, n, p.1-13, Mar. 1993.
- FARRANT, J.M.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P.; WALTERS, C. Subcellular organization and metabolic activity during the development of seeds that attain different levels of desiccation tolerance. Seed Science Research, Wallingford, v.7, n.2, p.135-144, June.1997.
- FERREIRA, D.F.; ZAMBALDE, A.L. Simplificação das análises de algumas técnicas especiais da experimentação agropecuária no Mapgen e softwares correlatos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFORMÁTICA APLICADA A AGROPECUÁRIA E AGROINDÚSTRIA, 1., 1997, Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte: SBI. p.285-291.
- FINCH-SAVAGE, W.E. Seed water status and survival in the recalcitrant species *Quercus robor* L.: Evidence for a critical moisture content. Journal of Experimental Botany, Oxford, 43, n.250, p.671-679, 1992.
- FRANÇA-NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. Londrina: EMBRAPA/CNPSOJA, 1986. 35p.
- HONG, T.D., ELLIS, R.H. Interspecific variatioan in seed storage behavior within two genera – coffea and citrus. Seed Science and Technology, Reading: v.23, n.1, p.165-181, 1995.
- GUIMARÃES, R.M. Fisiologia de Sementes. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 132 p.
- HALDER, S.; KOLE, S.; GUPTA, K. On the mechanism of sunflower seed deterioration under two diferent types of accelerated ageing. Seed Science and Technology, Zurich, v.11, n.2, p.331-339, 1983.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION ISTA. Handdbook of vigor test methods. Zurick: 1995.117p.
- KHAN, M.M.; HENDRY, G.A.F.; ATHERTON, N.M.; VERTUCCI-WALTERS, W. Free radical accumulation and lipid peroxidation in testas of rapidly aged soybean seeds: a light-promoted process. Seed Science Research, Zurich, v.6, n.1, p.101-107, 1996.

- KING, M.W. e ROBERTS, E.H. The storage of recalcitrant seeds: achievements and possible aproaches. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, Rome. 1979.
- KING, M.W., SOETISNA, U. e ROBERTS, E.H. The dry storage of citrus seeds. Annals of Botany, London, v 48, n.6, p.865-872, Dec. 1981.
- LIN, S.S. PEARCE, R.S. Changes in lipids of bean seeds (*Phaseolus vulgaris*) and corn caryopses (*Zea mays*) in contrasting environments. Annals of Botany, London, v.65, n.4, p.451-456, Apr. 1990.
- MACHADO, J.C. Patologia de sementes: fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação; Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.
- McDONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology, Zurich, v.27, n.1, p.177-237, 1999.
- MUMFORD, P. M.; PANGGABEAN, G. A comparison of the effects of dry storage on seeds of *citrus* species. Seed Science and Technology, Zurich, v.10, n.2, p.256-266, 1982.
- MUNGOMERY, W.V., AGNEW, G.W.J. e PRODONOFF, E.T. Maintenance of citrus seed viability. Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences, Brisbane, v.23, p.103-120, 1966.
- NAUER, E.M.; CARSON, T.L. Packaging citrus for long-term storage. Citrograpf. Califórnia, v70, n10, Aug.1985.
- PAMMENTER, N.W. e BERJACK, P. Aspects of recalcitrant seed physiology. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Londria, v.12, p.56-69, Dez. 2000.
- PEREIRA, J.A.M. Água no grão. In: Curso de armazenamento de sementes, Viçosa: Centreinar, 1992 p. irr. (treinamento na área de pós-colheita – cursos para técnicos de cooperativas).
- POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate condutivity in relation to the quality of seed sowing. Journal Seed of Technology, Sprienfield, v.10, n.2, p.81-100, 1986.
- POWELL, A.A; MATTHEWS, S. Association of phospholipid changes with early stages ageing. Annals of Botany, London, v. 47, n.6, p.707-712, June. 1981.

- PROBERT, R. J.; LONGLEY, P. L. Recalcitrant seed storage physiology in three aquatic grasses (*Zizania palustris, Spartina anglica* and *Porteresia coarctata*). Annals of Botany, v.63, p.53-63, 1989.
- RIBEIRO, U.P. Condicionamento fisiológico de sementes de algodão: efeitos sobre a germinação, vigor, atividade enzimática e armazenabilidade. 2000. 79p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ROBERTS, E.H. Physiology of ageing and its application to drying and storage. Seed Science and Technology, Zurich, v9, n.2, p.359-372, 1981.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. Seed Science and Technology, Reading: v1, n.2, p.499-514, 1973.
- ROBERTS, E.H. Storage environment and the control of viability. In: Viability the seeds. London, 1972. p.14-58.
- SMITH, M.T.; BERJACK, P. Deteriorative changes associated with the loss viability of stored desications of seed associated mycroflora during storage. In: JAIME, K.; GALILI, G. Seed Development and Germination. New york: Based - Hang yong, 1995. p. 701-746.
- TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, M. Manual das sementes, tecnologia da produção. São Paulo: Agronomia Ceres, 1977. 224 p.
- VERTUCCI, C.W.; FARRANT, J.M. Acquisition and loss of desication tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. Seed development and germination. New York: Marcel Dekker, 1995. p.237-271.
- VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.103-132.
- WALTERS, C. Levels of recalcitrantes in seeds. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Londrina, v.12, p.7-21, Dez. 2000.
- WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical test seed vigor. Seed Science and Technology, Zurich, v. 1, n. 1, p. 127-157, Jan/Mar. 1973.

WOODSTOCK, L.W. Seed imbition: a critical period for successful germination. Journal of Seed Technology, Sprienfield, v12, n.1, p.1-15, 1988.

CAPÍTULO 2

TESTES RÁPIDOS PARA A AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE CITROMELO SWINGLE

1 RESUMO

CARVALHO, Jairo Ademir de. Testes rápidos para a avaliação da viabilidade de sementes de *Citromelo Swingle*. Lavras: UFLA, 2001. 140p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia)*.

A avaliação da qualidade fisiológica de sementes de citros por meio de testes rápidos pode ser considerada como um recurso extremamente útil para as empresas produtoras de sementes, no sentido de possibilitar um controle de qualidade mais rápido e eficiente. Diante disso, objetivou-se com essa pequisa adaptar metodologias dos testes de pH do exsudato (fenolfetaleina), condutividade elétrica e tetrazólio para determinar a viabilidade de sementes de Citromelo Swingle armazenadas. Para o teste de pH do exsudato foram utilizadas sementes sem testa, tempos de embebição de 30, 60 e 120 minutos e tamanho de gota da solução de 40 µl. O teste de condutividade elétrica foi conduzido utilizando-se os períodos de embebição de 18, 24 e 30 horas. No teste de tetrazólio utilizaram-se sementes sem testa e tegma, concentração da solução de tetrazólio de 0,5% e tempo de embebição de 6 horas. O teste de emergência em bandeja e padrão de germinação foram utilizados para comparação dos resultados obtidos nesses. É viável a utilização do teste de pH do exsudato para estimar de forma rápida a viabilidade de sementes de Citromelo Swingle, uma vez que foi possível classificar e diferenciar os lotes em 30 e 60 minutos, à semelhanca do teste de emergência de plântulas e de germinação, respectivamente. Pelos testes de tetrazólio e de condutividade elétrica foi possível avaliar o vigor das sementes em até 30 horas.

^{*}Comitê Orientador: Prof^a Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. João Almir de Oliveira – UFLA

CHAPTER 2

RAPID TESTS FOR EVALUATING THE VIABILITY OF SEEDS OF CITROMELO SWINGLE

1 ABSTRACT

CARVALHO, Jairo Ademir de. Rapid tests for evaluating the viability of seeds of *Citromelo Swingle*. Lavras: UFLA, 2001. 140p. (Thesis – Doctorate in Crop Science)

The evaluation of the physiological quality of citrus with of rapid tests may be regarded as an extremely useful resource for the seed-producing enterprises in the sense of improving of enabling a faster and more efficient quality control. So, it was aimed with this research work to adapt methodologies of the tests of pH and exudate (phenolphthalein), electrical conductivity and tetrazolium to determine the viability of seeds of Citromelo Swingle stored for the pH test of the exudate testaless seeds, soaking times of 30, 60 and 120 minutes and size of the drop of the 40 ml solution were employed. The test of electrical conductivity was conducted by using the soaking periods of 18, 24 and 30 hours. In the tetrazolium test, testaless and tegmenless seeds concentration of the tetrazolim solution of 0,5 % and soaking time of 6 hours were using. The test of emergence on tray and germination pattern were utilized for comparing the results obtained in these. The utilization of the test of pH of the exudate to estimate in a rapid way the viability of the seeds of Citromelo Swingle is feasible since it was possible to classify and distinguish the lots in 30 and 60 minutes in the manner of the test of seedling emergence and germination, respectively. Through the tests of tetrazolium and electric conductivity was possible to evaluate the seeds vigor up to 30 hours.

^{*}Guidance Committee: Édila Vilela de Resende Von Pinho _ UFLA (major professor), Dr. João Almir de Oliveira – UFLA



3 INTRODUÇÃO

O teste mais utilizado para avaliar a qualidade físiológica de sementes de diferentes espécies é o de germinação por ser padronizado e reproduzível. Para tanto, o teste é realizado em condições favoráveis e ótimas para a espécie, não refletindo o comportamento das sementes no campo. Além desse aspecto, esse teste só detecta os estádios mais avançados do processo de deterioração das sementes.

Um outro aspecto a ser considerado no teste de germinação é o período para realização do teste. Em sementes de citros, esse período pode prolongar-se por até 60 dias após a semeadura. Além da germinação lenta, sementes de citros apresentam baixa longevidade após a colheita. Isso cria situações em que, quando se obtêm os resultados do teste de germinação, esse pode não refletir o verdadeiro estado fisiológico da semente, além da predisposição dessas ao ataque de patógenos durante o teste, prejudicando seriamente a germinação. Portanto, é interessante que as empresas produtoras de sementes disponham de testes para a avaliação rápida da viabilidade e do vigor, possibilitando o descarte de lotes de sementes de baixa qualidade, já na recepção ou no beneficiamento, com a conseqüente redução de custos no armazenamento. Esses testes ainda poderão ser utilizados para o monitoramento da qualidade fisiológica durante o armazenamento.

Atualmente, os testes rápidos disponíveis são baseados principalmente na coloração de tecidos vivos das sementes, em função das alterações ocorridas na atividade respiratória, como o teste de tetrazólio, e na permeabilidade das membranas, como o teste de condutividade elétrica e do pH do exsudato ou de fenolftaleina. No entanto, há necessidade de se ajustar as metodologias desses testes para as diferentes espécies.

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de adaptar metodologias de testes rápidos para avaliar a viabilidade de sementes de *Citromelo Swingle*, como uma ferramenta que permita maior agilidade nas avaliações da qualidade das sementes nos programas de controle de qualidade.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

Os testes rápidos geralmente se baseiam na coloração dos tecidos vivos das sementes, em função das alterações na atividade respiratória, no caso do teste de tetrazólio, ou na permeabilidade das membranas, por meio da avaliação da condutividade elétrica do meio de embebição ou nas alterações no pH do exsudato, em conseqüência da liberação de metabólitos durante a embebição das sementes.

Segundo vários autores, a perda da integridade das membranas celulares é a primeira manifestação de redução ou perda de qualidade das sementes. A permeabilidade das membranas, relacionada diretamente com a sua integridade, contribui para detectar diferentes graus de deterioração das sementes e a conseqüente perda da viabilidade e vigor (Bewley & Black, 1994). Sementes deterioradas liberam maiores quantidades de substâncias como açúcares e íons, quando comparadas às menos deterioradas, por ocasião da embebição destas, indicando uma maior ou menor permeabilidade das membranas (Toledo & Marcos Filho, 1977).

Bewley & Black (1994) relataram que a lixiviação de metabólitos das sementes é inversamente associada ao seu vigor e diretamente relacionada à deterioração e morte dessas sementes, em conseqüência da degradação das membranas celulares e perda do controle da permeabilidade.



4.1 Teste de pH do exsudato

A necessidade de informações rápidas sobre a qualidade fisiológica das sementes implica na necessidade do desenvolvimento de testes, cujo objetivo fundamental é a rapidez na obtenção dos resultados que possam ser utilizados pelos produtores e analistas de sementes. Nesse intuito (Amaral & Peske, 1984) desenvolveram o teste do pH do exsudato.

Quando sementes são colocadas para serem embebidas em água, ocorre liberação de açúcares, ácidos orgânicos e ions H⁺. Os ions H⁺ acidificam o meio e provocam a diminuição do pH do exsudato das sementes. Sementes deterioradas liberam maior quantidade desses ions H⁺ e, consequentemente, resultam em menores valores de pH. Por outro lado, as sementes menos deterioradas apresentam baixa lixiviação, o que não promove grandes alterações de pH do meio (Amaral & Peske, 1984). Esses autores determinaram a viabilidade de sementes de soja em períodos mais curtos que os testes convencionais por meio do teste do pH do exsudato (fenolftaleína), utilizando três períodos de embebição (20, 30 e 40 minutos) a 25°C. Após cada período de embebição, foram adicionadas uma gota de solução de carbonato de sódio e uma gota de solução de fenolfetaleina. Com base na reação dos exsudatos das sementes, os autores consideraram como viáveis as sementes cujos exsudatos apresentaram-se com coloração rosa forte, e as que apresentaram exsudatos com coloração rosa fraco ou incolor, como não viáveis. Os autores concluíram que o período de 30 minutos de embebição foi o mais eficiente para estimar a viabilidade de sementes de soja. Além disso, comentaram que o teste do pH do exsudato (fenolftaleína), além de avaliar a viabilidade de sementes de soja em apenas 30 minutos, possui metodologia simples e de fácil avaliação. Também Santana (1994), trabalhando com esse teste em sementes de milho, encontrou

melhores resultados utilizando o tempo de embebição de 30 minutos à temperatura de 25°C.

Fernandes, Sader & Carvalho (1987) utilizaram o teste do pH do exsudato para determinar a viabilidade de sementes de feijão em 30 minutos. Os autores verificaram que para as quatro cultivares estudadas, houve correlação entre os valores obtidos no teste de germinação e no teste do pH do exsudato.

Reich, Villela & Tillmann (1999) avaliando a qualidade fisiológica em sementes de ervilha, concluíram que o teste do pH do exsudato permitiu estimar a viabilidade das sementes, quando elas foram embebidas por 30 minutos. Por outro lado, Andrade (1994), estudando a influência do período e temperatura de embebição no teste do pH do exsudato para sementes de Brachiaria, concluiu que os melhores resultados foram observados no tempo de 75 minutos e à temperatura de 25 °C.

Figueiredo (2000) estudando a possibilidade de aplicação do teste de pH do exsudato na determinação da viabilidade de sementes de cafeeiro, concluiu que os melhores resultados, quanto à classificação dos lotes, foram observados no tempo de 20 horas. Além disso, o autor relatou que é viável a utilização do teste de pH do exsudato para se estimar a viabilidade de sementes de cafeeiro.

4.2 Teste de Condutividade elétrica

A perda da integridade das membranas celulares é a primeira manifestação de redução ou perda de qualidade das sementes. A permeabilidade das membranas, relacionada diretamente com a sua integridade, contribui para detectar diferentes graus de deterioração das sementes e a conseqüente perda da viabilidade e vigor (Woodstock, 1988).

Durante a embebição, as sementes liberam grande variedade de substâncias, tais como íons inorgânicos, açúcares, enzimas, nucleosídeos,

aminoácidos, ácidos graxos e orgânicos, para a água de embebição. De acordo com (Powell, 1986), a quantidade e intensidade de material lixiviado estão diretamente relacionadas à permeabilidade das membranas e são influenciadas pela idade da semente, pela sua condição fisiológica e também pela incidência de danificações. Esse material lixiviado possui propriedades eletrolíticas, portanto, carga elétrica, podendo ser detectadas por um condutivímetro, constituindo-se em um importante método para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

1

Ŷ

41

A qualidade das sementes é avaliada por meio da imersão das sementes em água e, conseqüentemente, pela determinação da condutividade da solução de embebição, que indicará o nível de qualidade do lote avaliado. Desse modo, baixos valores de condutividade indicam que as sementes apresentam alta qualidade, enquanto valores elevados, baixa qualidade. O aumento no teor de lixiviados na água de embebição está diretamente relacionado com a degradação das membranas e perda do controle da permeabilidade. À medida que o processo de deterioração avança, a reorganização do sistema de membranas é diminuída, refletindo negativamente na germinação e vigor das sementes (Woodstock, 1973).

Simon & Raja-Harum (1972) observaram que quando sementes secas são colocadas em contato com substrato úmido, ocorre uma rápida e intensa liberação de eletrólitos, seguida de uma redução na perda de solutos, à medida que os tecidos são reidratados, até atingir um estado de equilíbrio. Esse equilíbrio, segundo esses autores, pode ser atingido em períodos que variam desde alguns minutos até 24 horas. Hoskstra et al.(1992), citados por (Rosa et al. 2000) afirmam que sementes secas freqüentemente sofrem uma extensa lixiviação de solutos quando embebidas rapidamente, devido à transição de fase gel para líquido-cristalina dos fosfolipídeos da membrana, durante a reidratação. Se as sementes secas são aquecidas acima da temperatura de transição de fase ou são reidratadas em vapor, antes da imersão em água, elas continuam na mesma fase e, conseqüentemente, não sofrem danos de embebição.

Segundo Hampton (1992), o teor de água das sementes tem mostrado uma relação inversa com a condutividade. Nesse sentido, sementes de soja com teor de água inicial de 13 e 15% apresentaram valores de condutividade semelhantes. Por outro lado, houve aumento nas leituras quando o teor de água das sementes foi inferior a 8,8%. O teor inicial de água das sementes possui relação inversa com a condutividade elétrica. Desse modo, o autor sugeriu que o teste de condutividade elétrica fosse conduzido em sementes com teores de água acima de 13%. Loeffler et al. (1988) trabalhando com sementes de soja com conteúdos de água inferiores a 11%, encontraram valores elevados de condutividade elétrica, que não correlacionaram com a qualidade fisiológica das sementes. Os autores abordaram ainda que esses valores elevados da condutividade são resultados de danos causados durante a embebição rápida das sementes.

٠.

Conforme (McDonald, 1995), o processo de embebição em sementes varia conforme a composição química, a estrutura anatômica e a permeabilidade do tegumento.

A duração do período de embebição das sementes influencia a capacidade do teste em distinguir diferenças de qualidade entre lotes. Loeffler et al. (1988) estudaram os efeitos de diferentes períodos de embebição na condutividade elétrica de sementes de soja. Pelos resultados, constaram que lotes mais vigorosos puderam ser diferenciados após 6 horas de embebição, enquanto lotes menos vigorosos foram diferenciados em períodos variando de 18 a 24 horas. Dias & Marcos Filho (1996) também obtiveram resultados similares com sementes de soja.

O teste de condutividade elétrica tradicionalmente tem sido realizado com 24 horas de imersão para espécies de sementes graúdas (Dias & Marcos Filho, 1996). Portanto, torna-se interessante a condução de estudos referente à redução do período de duração do teste, uma vez que a rapidez na obtenção das

informações é fator fundamental em programas de controle de qualidade pelas empresas produtoras de sementes.

Ribeiro (1999) estudando a possibilidade de adequação do teste de condutividade elétrica para avaliação de sementes de milho (Zea mays L.), concluiu que o período relativo a 18 horas de condicionamento permitiu diferenciar lotes independente de seus níveis de qualidade fisiológica.

O teste de condutividade elétrica também tem sido utilizado para distinguir lotes de sementes durante o armazenamento. Rech, Villela & Tillmann (1999) verificaram diminuição na qualidade fisiológica das sementes de ervilha cv. *Max 40*, do início para o sexto mês de armazenamento, à medida que a taxa de lixiviação de eletrólitos aumentou.

Os valores da condutividade elétrica de massa são expressos em μ mhos/cm/g ou μ S/cm/g, unidades diferentes das obtidas em outros testes. Contudo, pesquisas têm demonstrado correlação entre o teste de condutividade e o de emergência no campo. Mariano (1991) trabalhando com sementes de milho, obteve valores de condutividade elétrica variando de 4 a 30 μ mhos/cm/g, correspondendo a lotes de sementes entre alto e baixo vigor. Também para sementes de soja (Vieira, 1994) observou que valores variando entre 60 e 70 μ mhos/cm/g foram considerados de alto vigor, ao passo que valores variando de 70 a 80 μ mhos/cm/g foram de médio vigor, para as cultivares estudadas.

Pelo exposto, observa-se que há diversos fatores que influenciam no teste de condutividade elétrica. Portanto, torna-se necessário pesquisas com objetivo de minimizar esses fatores, para que o teste possa ser usado como rotina para avaliar a qualidade de sementes de citros.

4.3 Teste de Tetrazólio

O teste de tetrazólio, por causa de sua rapidez, tem sido adotado em grande escala na avaliação da qualidade de sementes no Brasil. A avaliação da qualidade fisiológica é realizada com base na alteração da coloração dos tecidos vivos em presença de uma solução de sal de tetrazólio, refletindo a atividade de enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória. Essas enzimas catalisam a reação dos íons H⁺ liberados pela respiração dos tecidos vivos com o sal de tetrazólio, formando uma substância de cor vermelha insolúvel e não difusível. A reação se processa no interior das células, caracterizando os tecidos vivos que respiram, apresentando coloração vermelha e os tecidos mortos que não respiram e que se apresentam descoloridos.

Um aspecto importante no teste é a possibilidade de diagnosticar problemas que causam a perda da qualidade das sementes, como danos provocados por umidade, injúrias mecânicas, danos provocados por ataque de insetos e danos causados por secagem.

Saipari, Goswam & Dadlani (1998) observaram que os resultados no teste de tetrazólio foram semelhantes aos obtidos no teste de germinação e de emergência no campo em sementes de citros. Nessa pesquisa, os autores estudaram o efeito imediato da secagem sobre a germinação de algumas espécies de sementes de citros, com teores de água variando de 31,5 a 52,7 %.

Santos et al. (1998), ao investigarem a viabilidade de sementes de Caroba (*Cybistax antisyphilitica*) pelo teste de tetrazólio, observaram discrepâncias entre os resultados obtidos no teste de germinação e de tetrazólio. Os autores atribuíram essas discrepâncias à incidência de fungos nas sementes.

A eficiência do teste de tetrazólio na diferenciação de lotes de sementes de milho colhidas com teores de água variáveis, por diferentes métodos de colheita e debulha, foi avaliada por Araújo, Araújo & Silva (2000). Pelos

resultados obtidos, os autores concluíram que o teste de tetrazólio foi eficiente na diferenciação dos lotes de sementes durante o armazenamento.

Marcos Filho, Cicero & Silva (1987) afirmaram que o teste de tetrazólio apresenta limitações, como a necessidade de pessoal treinado para a avaliação, não detecta sementes dormentes, não indica a proporção de sementes duras na amostra e nem a presença de patógenos, não permite verificar a eficiência de um tratamento químico e nem os danos que esse pode causar e, ainda apresenta dificuldades quanto à padronização na interpretação do teste. Além desses aspectos, a principal crítica ao teste de tetrazólio é que as determinações realizadas são baseadas quase que exclusivamente em julgamentos subjetivos, o que traz dificuldades para a padronização do teste.

De maneira geral, observa-se que o teste de tetrazólio tem sido utilizado com maior freqüência em sementes de grandes culturas, havendo a necessidade de desenvolvimento de metodologias para outras espécies, como as de citros.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Universidade Federal de Lavras, MG, no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura. Foram utilizadas sementes da espécie *Citromelo Swingle*. As sementes foram produzidas em Limeira - SP, as quais foram extraídas dos frutos e degomadas como descrito no capítulo 1. Logo após o processamento, foram retiradas amostras de sementes, as quais foram tratadas com os fungicidas Captan 75 e Tecto 100, nas dosagens de 300g e 200g dos produtos, respectivamente, para cada 100 kg de sementes. As amostras de sementes foram embaladas em sacos de polietileno revestidos internamente com papel-jornal e armazenadas em câmara fria a 10°C, com teor de água inicial de 48,5%. Periodicamente, a intervalos trimestrais, durante nove meses, foram retiradas amostras das sementes para a realização das seguintes avaliações:

5.1. Determinação do teor de água

O teor de água inicial e durante o armazenamento das sementes foram determinados pelo método de estufa, a 105 ± 3 °C durante 24 h, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL,1992).

5.2. Teste de germinação

A semeadura foi realizada em folhas de papel germitest umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. A seguir, foram transferidas para germinador regulado à temperatura de 25 °C. As contagens foram realizadas no décimo sexto e no trigésimo dia, computando-se a porcentagem de plântulas normais. Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes cada.

5.3. Teste de emergência em bandeja

A semeadura foi realizada em bandejas plásticas contendo como substrato solo+areia na proporção 1:1. As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal, previamente regulada à temperatura de 25 °C em regime alternado de luz e escuro (12 horas). A partir do início da emergência, foram realizadas avaliações computando-se a porcentagem de plântulas emersas, apresentando um par de folhas, até a estabilização. O teste foi realizado com 8 repetições de 25 sementes por tratamento.

5.4. Teste do pH do exsudato (fenoftaleína)

Anteriormente à condução do teste, foram feitos testes preliminares, utilizando-se diferentes condições de preparo de sementes como: sementes intactas, sementes sem testa e, sem testa e tegma. O tratamento no qual foi utilizado sementes sem testa foi o que se apresentou mais promissor para a realização do teste. Também foram feitos testes preliminares para adequar o tamanho de gota da solução e os tempos de embebição a serem utilizados em sementes de citros. Testaram-se os tamanhos de gotas de 20, 30, 40 e 50 µl e os tempos de embebição de 10, 15, 30, 60 e 120 minutos. Optou-se pelo tamanho de gota da solução de 40 µl e pelos tempos de embebição de 30, 60 e 120 minutos. Dessa forma, foram utilizadas sementes sem testa, sendo que a mesma foi retirada com auxílio de uma pinça. Posteriormente, 4 repetições de 40 sementes foram acondicionadas em formas plásticas, com células individualizadas, de fundo côncavo de 2,7 cm de diâmetro e 1,8 de profundidade. Em cada célula foram colocados 2 ml de água destilada (pH 7,0) e uma semente, e para cada repetição, uma célula permaneceu somente com água para servir como referência no momento da interpretação. A embebição das sementes foi efetuada sob temperatura de 25 °C, em câmara de germinação tipo BOD.

A solução de fenolfetaleína foi preparada dissolvendo 1 grama de fenolfetaleína em 100 ml de álcool, adicionando-se 100 ml de água destilada fervida. A preparação da solução de carbonato de sódio foi feita dissolvendo-se 0,43 gramas de carbonato de sódio anídro em 200 ml de água destilada e fervida. Em seguida, misturaram-se as duas soluções na proporção de 1:1, conforme metodologia descrita por (Amaral, 1991).

Após cada período de embebição, foi adicionada em cada célula uma gota da solução de fenolfetaleína + carbonato de sódio, procedendo-se à mistura com auxílio de um bastão de vidro. A avaliação foi realizada com base na coloração do meio de embebição, sendo consideradas como viáveis as sementes cujos exsudatos apresentaram-se com coloração rosa fraco até rosa forte e como não viáveis aquelas cujos exsudatos permaneceram incolores. Para confirmar essa metodologia as sementes imersas em cada solução com as colorações específicas citadas acima, foram semeadas em bandejas contendo substrato solo+areia na proporção de 1:1. Após a avaliação foi observado que as sementes cujos exsudatos apresentavam-se com coloração rosa fraco até rosa forte davam origem à plântulas normais.

O teste foi realizado em delineamento inteiramente casualizado. As médias de viabilidade obtidas no teste de fenolftaleina e os resultados obtidos nos testes de germinação e de emergência de plântulas foram comparados entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, dentro de cada época de avaliação.

5.5. Teste de condutividade elétrica

Para condução desse teste, foi adotada a metodologia proposta por Vieira (1994), utilizando-se quatro subamostras de 50 sementes para cada tratamento, previamente escolhidas para remoção daquelas com tegumento danificado. As subamostras foram pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75 ml de água destilada. Em seguida, foram levadas para câmara de germinação tipo BOD previamente regulada a 25°C, onde permaneceram por períodos de embebição de 18, 24 e 30 horas. Decorrido cada período, a condutividade elétrica da solução foi determinada por meio de um condutivímetro de massa, marca DIGIMED, e os valores médios obtidos para cada tratamento foram expressos em µmhos/cm/g de semente.

O teste foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x4, em que os fatores estudados foram tempos de embebição e

periodos de armazenamento. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5.6. Teste de tetrazólio

Anteriormente à condução do teste, foram feitos testes preliminares, utilizando-se diferentes tipos de preparo das sementes como: sementes intactas, semente sem testa e, sem testa e tegma. A utilização de sementes sem testa e tegma foi a mais adequada para a condução do teste, por proporcionar embebição uniforme da solução de tetrazólio. Também foram feitos testes preliminares para adequar a concentração da solução de tetrazólio e o tempo de coloração na solução. Definiu-se pela solução de 0,5% e pelo tempo de embebição de 6 horas.

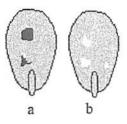
Para esse teste, foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes. As sementes foram pré-embebidas em água a 30°C durante 18 horas. Decorrido esse período, retiraram-se a testa e o tegma das sementes com auxílio de uma pinça. Em seguida, as sementes foram imersas em solução de 0,5% de sal de tetrazólio (cloreto 2-3-5 trifenil tetrazólio) e mantidas no escuro durante 6 horas no interior de um germinador a 30°C.

Após o desenvolvimento da coloração, as sementes foram lavadas em água corrente, avaliadas individualmente e classificadas em 4 classes descritas a seguir. A cor cinza corresponde à coloração rosa brilhante e a preta à vermelho intenso.

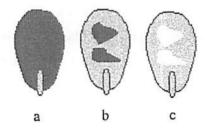
Classe 1: sementes com coloração rosa brilhante uniforme em toda a sua extensão.



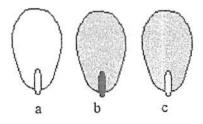
Classe 2: sementes com coloração rosa brilhante, com pequenas manchas de cor vermelho intenso (a) ou branca (b)



Classe 3: sementes com coloração vermelho intenso, exceto no eixo embrionário (a), ou com manchas maiores de cor vermelho intenso (b) ou branca (c).



Classe 4: sementes totalmente descoloridas (a) ou com o eixo embrionário com coloração vermelho intenso (b) ou branca (c).



A viabilidade foi representada em duas categorias: pela soma das porcentagens de sementes pertencentes às classes 1+2+3 e pela soma das classes 1+2. Os resultados foram expressos em porcentagem média. O teste foi instalado em delineamento inteiramente casualisado. Foi ajustado um modelo generalizado em que as médias de viabilidade do teste de tetrazólio pertencentes às classes 1+2+3 e 1+2 foram comparadas por meio de intervalo de confiança, com as médias do teste de germinação e de emergência de plântulas.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Teor de água das sementes

Os dados referentes aos teores de água das sementes de *Citromelo Swingle* não variaram durante as épocas de armazenamento (Tabela 34), uma vez que o tipo de embalagem utilizada foi a impermeável. Esse tipo de embalagem restringe a troca de vapor de água entre as sementes e o ambiente.

TABELA 34.	Dados m	édios (%)	do teor	de águ	a de	semente	es de	e Citrome	?lo
	Swingle	avaliados	logo	após	a	colheita	е	durante	0
	armazena	mento em o	câmara f	ria. UFI	LA, I	Lavras — I	MG,	, 2001.	

Época (mês)	Teor de água (%)
0	48,50
3	48,27
6	48,42
9	48,98

6.2. Teste do pH do exsudato (Fenolftaleina)

O resumo da análise de variância dos dados observados no teste de fenolftaleina durante o armazenamento (Tabela 9A) revelou efeito significativo entre os resultados de viabilidade pelo teste de fenoftaleina e os obtidos no teste de germinação e emergência.

Os resultados médios de viabilidade obtidos no teste de fenolftaleina durante o armazenamento estão apresentados na Tabela 35. No início do armazenamento (época 0), os valores de viabilidade obtidos no teste de fenolftaleina foram superiores aos observados no teste de germinação e emergência. Essa diferença foi mais acentuada quando utilizou-se o período de embebição de 30 minutos.

Ao analisar os resultados de germinação e de emergência, no terceiro mês de armazenamento, observou-se aumento nesses valores em relação aos observados no início do armazenamento. Provavelmente, esse aumento possa ser atribuído à presença de dormência nas sementes de *Citromelo Swingle* quando recém-colhidas. Como as sementes foram armazenadas em câmara regulada a 10 °C, pode ter ocorrido quebra de dormência por estratificação. Nesse processo, a dormência é controlada por um balanço inibidor-promotor, que é alterado pela exposição das sementes a baixas temperaturas, processo conhecido como estratificação. Durante a estratificação, ocorrem mudanças fisicas e fisiológicas no embrião. Eixos embrionários de sementes estratificadas aumentam o número de células, o peso seco e o comprimento total. Há também aumento da absorção de oxigênio e o suprimento de energia para o eixo embrionário (Zarsca, 1976 citado por McDonald, 1995).

Aumento de 60% na germinação foi obtido por (Trask & Pyke 1998) em sementes dormentes de várias gramíneas, após a estratificação a 5°C por quatro semanas.

TABELA 35. Resultados médios (%) do teste de fenolftaleina em sementes de <i>Citromelo Swingle</i> submetidas em diferentes tempos de embebição e em diferentes períodos de armazenamento. UFLA, Lavras - MG,
2001.

Período de	Tempo de embebição	Viabilidade (%)
armazenamento (mês)	(min)	(Fenolftaleina)
	30	95 A
0	60	79 B
-	120	80 B
	Germinação	61 C
	Emergência	64 C
	Tempo de embebição	Viabilidade
	30	95 A
3	60	90 B
	120	77 C
	Germinação	91B
	Emergência	96 A
	Tempo de embebição	Viabilidade
	30	96 A
6	60	88 BC
	120	83 C
	Germinação	89 B
	Emergência	98 A
	Tempo de embebição	Viabilidade
		68 AB
9	60	53 B
	120	67 AB
	Germinação	59 B
	Emergência	80 A
Afdian comidee male me	ama loten majúcaula nas colu	inge para cada énoca (

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas, para cada época de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Vale ressaltar que em testes preliminares com sementes de alface semeadas em substrato umedecido com extrato triturado provenientes da testa e do tegma de sementes de *Citromelo Swingle*, houve redução de 88% nos valores de germinação das sementes de alface semeadas em substrato contendo testa, e de 100% quando foram semeadas em substrato com tegma, indicando a presença de substâncias inibidoras nessas estruturas. Sabe-se que o teste de fenolftaleina não é capaz de detectar dormência nas sementes, fato que explica as discrepâncias entre os resultados observados no teste de fenolftaleina e de germinação e emergência de plântulas, no início do armazenamento.

Pelos resultados obtidos nas avaliações das sementes aos três, seis e nove meses de armazenamento, observa-se que os valores de viabilidade obtidos pelo teste de fenolftaleina não diferenciaram estatisticamente dos resultados observados no teste de germinação quando as sementes foram embebidas por 60 minutos. Já para o teste de emergência de plântulas, de uma maneira geral, maior semelhança entre os resultados foi observado quando as sementes foram embebidas por um período 30 minutos. Nessas condições, não houve diferença estatística entre o valor de viabilidade obtido no teste de fenolftaleina e o de emergência de plântulas. Observou-se ainda que a partir do terceiro mês de armazenamento, as sementes apresentaram maiores valores de emergência de plântulas no solo quando comparados aos observados no teste de germinação. Vale ressaltar que no teste de germinação as sementes permaneceram 30 dias no germinador. As condições do teste podem ter favorecido a ação de microrganismos ou mesmo ter acelerado o processo de deterioração das sementes. Em solo, as condições predominantes nem sempre são favoráveis ao desenvolvimento de patógenos, como parece ter ocorrido no teste de germinação.

A semelhança dos valores obtidos no teste de germinação em relação aos observados no teste de fenolftaleina a partir do terceiro mês de armazenamento, quando as sementes foram embebidas por 60 minutos, pode ser explicado pelo fato de que nessas condições houve maior lixiviação de eletrólitos das sementes para o meio de embebição, o que, conseqüentemente, revelou menor valor de viabilidade das sementes no teste de fenoftaleina. Já os menores valores de lixiviação de eletrólitos esperados durante a embebição por 30 minutos podem

explicar a semelhança entre os valores no teste de emergência e os valores obtidos no teste de fenolftaleína no referido período de embebição.

Reich, Villela & Tillmann (1999) avaliando a qualidade fisiológica em sementes de ervilha, concluíram que o teste do pH do exsudato permitiu estimar a viabilidade das sementes, quando as mesmas foram embebidas por 30 minutos. Resultados semelhantes também foram observados por (Amaral & Peske, 1984), ao trabalharem com sementes de soja; (Fernandes, Sader & Carvalho, 1987), com sementes de feijão, e (Santana, 1984), com sementes de milho.

O valor observado no teste de emergência no nono mês de armazenamento foi estatisticamente semelhante aos valores observados no teste de fenolftaleina, quando as sementes foram embebidas por períodos de 30 e 120 minutos. Por outro lado, como ocorreu no terceiro e sexto mês de armazenamento, o valor observado no teste de germinação foi estatisticamente igual ao valor de viabilidade pelo teste de fenolftaleina, quando as sementes foram embebidas por 60 minutos.

À medida que aumentou o período de embebição das sementes, menores valores de viabilidade foram observados no teste de fenolftaleina. Isso provavelmente ocorreu por causa da maior lixiviação de exsudatos das sementes nos maiores períodos de embebição, em conseqüência da desestruturação das membranas celulares das sementes (Bewley & Black, 1994).

De maneira geral, observou-se que a viabilidade das sementes de *Citromelo Swingle* foi mais bem avaliada pelo teste de fenolftaleina, quando foram embebidas por 60 minutos em relação ao teste de germinação. No entanto, para estimar a emergência de plântulas, as sementes deverão ser embebidas por um período de 30 minutos

menores valores observados no início do armazenamento, pelos testes de germinação e emergência, e não detectados pelo teste de condutividade, confirmam a provável presença de dormência nas sementes recém-colhidas, conforme discutido anteriormente no teste de fenolftaleina. Já aos nove meses de armazenamento, a taxa de lixiviação de eletrólitos aumentou, coincidindo com menores valores de germinação e emergência de plântulas. Rech, Villela & Tillmann (1999) verificaram diminuição na qualidade fisiológica nas sementes de ervilha cv. *Max 40*, do início para o sexto mês de armazenamento, à medida que a taxa de lixiviação de eletrólitos aumentou.

Pesquisas com outras espécies têm demonstrado correlação entre o teste de condutividade e o de emergência no campo. Mariano (1991) trabalhando com sementes de milho, obteve valores de condutividade elétrica variando de 4 a 30 μ mhos/cm/g, correspondendo a lotes de sementes entre alto e baixo vigor. Vieira (1994) observou que valores variando entre 60 e 70 μ mhos/cm/g foram considerados de alto vigor, ao passo que valores variando de 70 a 80 μ mhos/cm/g foram de médio vigor, em sementes de soja.

No presente trabalho, valores de condutividade elétrica variando de 17,22 a 21,46 µmhos/cm/g, corresponderam a lotes de sementes com alto vigor. Vale ressaltar, que para citros fica dificil estabelecer faixas de valores de condutividade elétrica, o que implica na necessidade de mais estudos para que sejam estabelecidos valores de condutividade elétrica para essa espécie.

No entanto, ressalta-se que em sementes que apresentam dormência, o teste de condutividade elétrica não se mostra eficaz para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

6.4. Teste de Tetrazólio

Os resultados médios de viabilidade obtidos no teste de tetrazólio, correspondendo às classes 1+2+3 e 1+2, de germinação e de emergência de plântulas estão apresentados na Figura 13. No início do armazenamento foram observados maiores valores de viabilidade pelo teste de tetrazólio, considerando as duas classes, comparando-se os valores observados nos testes de germinação e de emergência de plântulas. Isso provavelmente ocorreu por causa da presença de dormência nas sementes no início do armazenamento, como abordado nos testes de fenolftaleina e condutividade. Sabe-se que uma das limitações do teste de tetrazólio é a não-detecção de sementes dormentes.

Saipari, Goswam & Dadlani (1998) estudando o efeito imediato da secagem sobre a germinação de algumas espécies de sementes de citros, com teores de água variando de 31,5 a 52,7 %, também verificaram que os valores de viabilidade detectados pelo teste de tetrazólio foram superiores aos observados no teste de germinação e de emergência no campo. Por outro lado, os resultados obtidos no teste de emergência de plântulas no campo foram similares aos de germinação em laboratório, conforme verificado no presente trabalho.

No terceiro e sexto meses de armazenamento, verificou-se que os valores de viabilidade pelo teste de tetrazólio (classe 1+2+3) foram estatisticamente semelhantes aos valores observados no teste de emergência de plântulas, e superiores aos observados no teste de germinação. Por outro lado, os valores de viabilidade referentes à classe 1+2 foram estatisticamente iguais aos de germinação e aos de emergência de plântulas. Nessa classe, estão incluídas apenas as sementes com pequenos danos; assim, o porcentual de viabilidade das sementes dessa classe foi menor em relação ao da classe 1+2+3, tendendo a igualar-se aos de germinação e de emergência. Já na classe 1+2+3 está incluído um maior número de sementes, superestimando os valores de viabilidade em

relação aos valores de germinação. No teste de germinação, o período mais prolongado de permanência das sementes no germinador pode ter favorecido o desenvolvimento de microrganismos, conforme comentado anteriormente, reduzindo os valores de germinação.

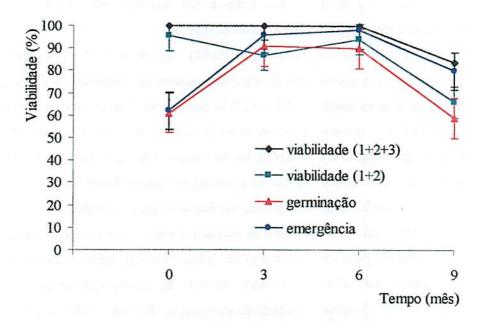


FIGURA 13. Resultados médios (%) de viabilidade de sementes de Citromelo Swingle, considerando as classes 1+2+3 e 1+2 (tetrazólio), e de germinação e emergência de plântulas, durante o armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001. Em resumo, verifica-se que, a partir do terceiro mês de armazenamento, o teste de tetrazólio foi eficiente em avaliar a qualidade fisiológica das sementes. Vale ressaltar que os dados observados no teste de emergência de plântulas foi o que melhor se correlacionou com os de viabilidade das sementes correspondentes a ambas as classes de sementes.

Na última época de armazenamento, os valores de viabilidade das sementes pertencentes à classe 1+2+3 foram estatisticamente iguais aos do teste de emergência de plântulas e superiores aos de germinação. Já os valores de viabilidade das sementes correspondentes à classe 1+2 foram estatisticamente iguais aos do teste de germinação e inferiores aos observados no teste de emergência. Nessa época, as sementes já se encontravam num estágio avançado de deterioração. Além disso, como as sementes permaneceram por um período de 30 dias no germinador, as mesmas ficaram expostas à presença de fungos que, conseqüentemente, pode ter interferido nos valores de germinação. Dessa forma, os valores observados no teste de germinação foram inferiores aos observados no teste de germinação fo

Nesta pesquisa, os testes de fenolftaleina, tetrazólio e condutividade elétrica foram eficazes para avaliar a qualidade fisiológica das sementes. Os resultados obtidos no teste de fenolftaleina, considerando a embebição das sementes por um período de 30 minutos, correlacionaram-se com os resultados obtidos no teste de emergência, e os obtidos a partir da embebição das sementes por 60 minutos, correlacionaram-se com os resultados obtidos no teste de germinação. Pelos resultados observados nos testes de tetrazólio e de condutividade elétrica foi possível avaliar o vigor das sementes em até 30 horas.

No teste de tetrazólio, considerando o terceiro e sexto mês de armazenamento, os valores de viabilidade das sementes de ambas as classes correlacionaram aos valores observados no teste de emergência de plântulas. No entanto, em períodos mais avançados de armazenamento, quando as sementes se

encontravam mais deterioradas, deve-se considerar a classe 1+2+3 para a predição da emergência de plântulas e a classe 1+2 para predizer a germinação das sementes, nas condições consideradas nesta pesquisa.

Deve-se ressaltar que os testes utilizados não detectaram uma provável dormência das sementes, quando recém-colhidas.

Sabe-se que o desenvolvimento de testes rápidos na avaliação de sementes tem sido um tema de grande debate entre os pesquisadores de diversos países, tendo em vista a necessidade por parte dos produtores de sementes em tomar decisões rápidas sobre o aproveitamento ou descarte de lotes de sementes. Nesse estudo, o teste de fenoftaleína foi eficaz para predizer a emergência das plântulas em até 30 minutos. Além de ser um teste rápido na obtenção dos resultados, os quais podem ser utilizados pelos produtores e analistas de sementes, é também de fácil execução.

Nesse contexto, há necessidade da continuidade de estudos visando à ampliação dos conhecimentos sobre a metodologia e possibilidade de utilização dos testes disponíveis, além do desenvolvimento de outros.

7 CONCLUSÕES

É viável a utilização do teste de pH do exsudato para estimar de forma rápida a viabilidade de sementes de *Citromelo Swingle*, uma vez que por meio desse é possível diferenciar os lotes em 30 e 60 minutos, à semelhança do teste de emergência de plântulas e de germinação.

Pelos testes de tetrazólio e de condutividade elétrica foi possível avaliar o vigor das sementes em até 30 horas.

A utilização de testes rápidos para a avaliação da viabilidade e vigor é promissora para o monitoramento da germinação e emergência de plântulas de *Citromelo Swingle*. Por outro lado, esses testes não detectam uma provável dormência das sementes, quando recém-colhidas.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Nos últimos anos, a produção de citros no Brasil aumentou consideravelmente. Dessa forma, há uma grande demanda por mudas de alta qualidade em épocas que sejam mais oportunas para o citricultor. A disponibilidade de mudas, no entanto, depende de sementes com qualidade, uma vez que a muda cítrica normalmente é resultado do processo de enxertia, em que os porta-enxertos são geralmente propagados por meio de sementes.

Sementes de citros geralmente apresentam germinação lenta, prolongando consideravelmente o período de formação das mudas. Além da germinação lenta, sementes de algumas espécies de citros apresentam baixa longevidade após a colheita. Essas sementes não podem sobreviver à dessecação abaixo de um teor de água considerado crítico para a espécie. Mesmo com altos teores de água, as sementes de citros tendem a mostrar uma longevidade comparativamente curta. Além disso, a longevidade das sementes pode variar conforme a espécie e a temperatura durante o armazenamento.

Neste trabalho, sementes de *Citromelo Swingle* comportaram-se como recalcitrantes tanto em condições de câmara fria como em não controladas. Já nas de *Limão Cravo* esse comportamento foi marcante a partir de sexto mês de armazenamento, principalmente para as amostras acondicionadas em embalagens semipermeável e permeável e armazenadas em condição ambiente. Além disso, as melhores condições para a conservação das sementes de *Citromelo Swingle* foram o acondicionamento com 44% de teor de água em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. As condições para a conservação das

sementes de *Limão Cravo* foram semelhantes às de *Citromelo Swingle*; no entanto, elas podem ser armazenadas com teores de água entre 44% e 27%.

Os testes rápidos para a avaliação da viabilidade das sementes são importantes em programas de controle de qualidade nas empresas produtoras de sementes e mudas de citros, por causa principalmente da germinação lenta das sementes. Na presente pesquisa, os testes rápidos apresentaram-se como promissores para o monitoramento da germinação e emergência de plântulas, a partir do terceiro mês de armazenamento. O teste de pH do exsudato foi mais eficaz em relação aos demais utilizados nessa pesquisa por ser mais rápido e de fácil execução. No início do armazenamento, diante da provável dormência nas sementes de *Citromelo Swingle*, os valores observados em todos os testes rápidos utilizados na presente pesquisa foram superestimados em relação aos observados no teste de germinação e emergência de plântulas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A.D., Testes rápidos para estimar a germinação de sementes. Lavoura Arrozeira, Porto Alegre, v.44, n. 397, p. 10-14, jul/ago.1991.
- AMARAL, A.S.; PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.6, n.3, p.85-92, 1984.
- ANDRADE, A.C. Adaptação do teste rápido (pH do exsudato fenolftaleina), para estimar a viabilidade de sementes de capim braquiaria (Brachiaria decumbes staft). 1994. 67p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ARAÚJO, R.F.; ARAÚJO, E.F.; SILVA, R.F. O teste de tetrazólio em camada de aleurona na avaliação de sementes de milho danificadas durante a colheita e durante o armazenamento. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.22, n.1, p.104-109, 2000.

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seed Physiology of Development and germination, 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para análise de Sementes. Brasília: SNDA-Departamento Nacional de Defesa Vegetal, CLAV, 1992. 365p.
- DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para a avaliação do vigor de sementes de soja (*Glicine max* (L.) Merrill.). Scientia Agricola, Piracicaba, v.53, n.1, p.31-42, jan/fev. 1996.
- FERNANDES, E.J.; SADER, R.J.; CARVALHO, N.M. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo pH do exsudato. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.69-75, 1987.
- FERREIRA, D.F.; ZAMBALDE, A.L. Simplificação das análises de algumas técnicas especiais da experimentação agropecuária no Mapgen e softwares correlatos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFORMÁTICA APLICADA A AGROPECUÁRIA E AGROINDÚSTRIA. 1997, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: 1997. p. 285 - 291.
- FIGUEIREDO, T.G. Adaptação do teste rápido (pH do exsudato fenolftaleina), para estimar a viabilidade de sementes de (Coffea arabica L.). 2000. 57p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- FRANÇA-NETO, J.B., PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSOJA, 1986. 35p.
- HAMPTON, J.C.; JHONSTONE, K.A.; EUA-UMPON, V. Bulk condutivity test variables for mungbean, soybean and french bean seed lots. Seed Science and Technology, Zurich, v.20, n.3 p.677-686, 1992.
- LOEFFLER, T.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. The bulk condutivity test as an indicator of soybean seed quality. Journal Seed of Technology, Sprienfield, v.12, n.1, p.37-53, 1988.
- MACDONALD, M.B.; COPELAND,L. Seed Production: principeles and Pratices. New York: Champman & Hall, 1995. 749 p.

- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. Avaliação da qualidade fisiológica das sementes. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- MARIANO, M.I.A. Avaliação qualitativa de sementes de milho durantte o beneficiamento, com ênfase para a danificação mecânica. 1991. 106p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agronomia Luiz de Qeiros, Piracicaba.
- POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate condutivity in relation to the quality of seed sowing. Journal Seed of Technology, Sprienfield, v.10, n.2, p.81-100, 1986.
- REICH, E.G., VILLELA, F.A., TILLMANN, M.A. Avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de ervilha. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.21, n 2, p.1-9, 1999.
- RIBEIRO, D.M.C. Adequação do teste de condutividade elétrica de massa e individual para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (Zea mays L.). 1999.105p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ROSA, S.D.V.F.; VON PINHO, E.V.R.; VIEIRA, M.G.G.C.; VEIGA, R.D. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho (*Zea mays*). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.22, n.1, p.54-63, 2000.
- SAIPARI, E., GOSWAMI, A.M., DADLANI, M. Effect of drying on germination behaviour in citrus. Scientia Horticulturae. Amsterdam, v.73, n. 2/3, p.185-190, 1998.
- SANTANA, D.G. Adaptação do teste do pH do exsudato e viabilidade do uso da amostragem sequencial na rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho (Zea mays L.). 1994. 79p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SANTOS, M.F.; RIBEIRO, W.R.C.; FAIAD, M.G.R.; SALOMÃO, A.N. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de Caroba (*Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart.). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.20, n.1, p.1-6, 1998.
- SIMON, E.W.; RAJA HARUM, R.M. Leakeage during seed imbition. Journal Experimental of Botany, Oxford, v.23, n.77, p.1076-1085, Dec. 1972.

- TOLEDO, F.F., MARCOS FILHO, M. Manual das sementes, tecnologia da produção. São Paulo: Agronomia Ceres. 1977. 224 p.
- TRASK, M.M.; PYKE, D.A. Variabilidade in seed dormancy of three Pacific Northwestern. 1998. Seed Science and Techonology, Zurich, v.26, n.1, p.179-191, 1998.
- VIEIRA, R.D; CARVALHO, N.M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.
- WOODSTOCK, L.W. Seed imbition: a critical period for successful germination. Journal of Seed Technology, Sprienfield, v.12, n.1, p.1-15, 1988.
- WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical test seed vigor. Seed Science and Technology, Zurich, v.1, n.1, p.127-157, Jan/Mar. 1973.

an tha an an transformation and the transformation of a line and a first an experimental and the second second

e de la construcción de la constru Construcción de la construcción de l

1990 - La marena de Santa de Carlo de C

9 ANEXOS

. .

• •

.

Página

TABELA 1A Médias mensais de Temperatura (°C) e Umidade relativa do ar (%) registradas no armazém convencional durante o período de março de 98 a março de 1999. UFLA, Lavras - MG, 2001..... 133 **TABELA 2A** Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo, tratadas e não tratadas e armazenadas com diferentes teores de água, no início do armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001..... 133 **TABELA 3A** Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes e com diferentes teores de água, após três meses em armazenamento convencional. UFLA. Lavras - MG, 2001..... 134 **TABELA 4A** Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes e com diferentes teores de água, após seis meses em armazenamento convencional. UFLA, Lavras – MG. 2001..... 135 **TABELA 5A** Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes e com diferentes teores de água, após nove meses em armazenamento convencional. UFLA, Lavras – MG, 2001 136

TABELA 6A Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes e com diferentes teores de água, após três meses em armazenamento em câmara fria. UFLA, Lavras – MG, 2001 137 **TABELA 7A** Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes e com diferentes teores de água, após seis meses em armazenamento em câmara fria. UFLA, Lavras – MG, 2001..... 138 Resumo da análise de variância dos dados obtidos na **TABELA 8A** avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Limão cravo tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes e com diferentes teores de água, após três meses em armazenamento em câmara fria. 139 UFLA. Lavras - MG. 2001..... Resumo da análise de variância dos dados obtidos **TABELA 9A** nas comparações feitas entre os resultados médios de viabilidade pelo teste de fenolftaleina e os de germinação e emergência em sementes de Citromelo Swingle durante o armazenamento. UFLA, Lavras -MG, 2001 140 Resumo da análise de variância dos dados obtidos na TABELA 10A avaliação da condutividade elétrica de sementes de 140 Citromelo Swingle durante o armazenamento.....

Ano	Mês	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
	Março	26,40	69,80
	Abril	24,50	71,70
	Maio	20,19	67,00
	Junho	18,28	70,21
	Julho	20,06	61,33
1998	Agosto	21,67	64,88
	Setembro	23,43	62,93
	Outubro	21,82	73,13
	Novembro	22,57	71,30
	Dezembro	25,76	68,29
1999	Janeiro	25,23	67,26
	Fevereiro	25,57	70,79
	Março	24,55	69,52

TABELA 1A. Médias mensais de Temperatura (°C) e Umidade relativa do ar (%) registradas no armazém convencional durante o período de março e 1998 a março de 1999. UFLA, Lavras – MG, 2001.

TABELA 2A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Limão Cravo*, tratadas e não tratadas e armazenadas com diferentes teores de água, no início do armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001.

			Quadrado médio	
Fonte de variação	GL	Germinação	Envelhecimento artificial	Emergência em bandeja
Tratamento (T)	1	17,5208*	42,1875**	44,0833**
Umidade (U)	3	0,9097	49,3541**	48,6666**
T*U)	3	0,5208	4,9652	4,9722
Erro	40	3,6875	2,6041	5,1500
CV (%)		8,65	7,27	11,21

*significativo a 5% de probabilidade

TABELA 3A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Limão Cravo*, tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água, após três meses em armazenamento convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

alanda in an	a an da indi indanifikana ani i Al		Quadrado médio	
Fonte de variação	GL	Germinação	Envelhecimento artificial	Emergência em bandeja
Tratamento (T)	1	11,7443**	45,5375**	24,8664**
Embalagem (E)	2	2,4032**	7,1788**	4,4245**
Umidade (U)	3	0,8782**	1,0911**	0,7586**
T*E	2	0,2953*	7,1906**	1,4740**
т * U	3	0,5001**	1,4874**	0,2295**
Ē*Ū	6	05621**	6,8561**	1,9946**
T*E*U	6	0,2520**	0,7959**	0,3436**
Епто	120	0,0642	0,1831	0,0490
CV (%)		6,09	12,09	5,71

*significativo a 5% de probabilidade

TABELA 4A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Limão Cravo*, tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água, após seis meses em armazenamento convencional. UFLA, Lavras - MG, 2001.

			Quadrado médio	**************************************
Fonte de variação	GL	Germinação	Envelhecimento artificial	Emergência em bandeja
Tratamento (T)	1	28,8139	0,1197	0,0060
Embalagem (E)	2	27,5453**	54,7233**	40,6437**
Umidade (U)	3	2,3496**	15,2982**	9,1654**
T*E	2	2,2571**	0,1764	0,2211
T * U	3	0,9777**	0,6631**	0,5458**
E * U	6	12,3275**	20,5050**	18,4722**
T*E*U	6	0,4214*	0,2284**	0,1740
Егго	120	0,1627	0,0672	0,1376
CV (%)		15,65	16,12	23,16

*significativo a 5% de probabilidade

TABELA 7A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Limão Cravo*, tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água, após seis meses em armazenamento em câmara fria. UFLA, Lavras - MG, 2001.

			Quadrado médio	
Fonte de variação	GL	Germinação	Envelhecimento artificial	Emergência em bandeja
Tratamento (T)	1	11,9726**	8,2302**	0,1860
Embalagem (E)	2	0,0646	11,1281**	0,2314
Umidade (U)	3	0,9234**	2,0965**	1,6454**
T*E	2	0,1218	0,0439	0,9494**
T*U	3	0,7352**	1,6688**	0,3746*
E * U	6	1,0261**	5,1717**	0,8511**
T*E*U	6	0,3535**	1,2814**	0,4070*
Erro	120	0,0779	0,1500	0,1441
CV (%)		6,50	10,72	9,17

*significativo a 5% de probabilidade

TABELA 8A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Limão Cravo*, tratadas e não tratadas, acondicionadas em diferentes embalagens e com diferentes teores de água, após nove meses em armazenamento em câmara fria. UFLA, Lavras - MG, 2001.

****			Quadrado médio	
Fonte de variação	GL	Germinação	Envelhecimento artificial	Emergência em bandeja
Tratamento (T)	1	5,0063**	2,8140**	9,2088**
Embalagem (E)	2	3,6758**	14,1375**	3,2081**
Umidade (U)	3	10,4937**	1,9469**	4,1101**
T*E	2	3,2159**	0,3660**	0,2631*
T * U	3	7,2541**	0,5195**	0,6507**
E * U	6	3,6629**	4,0181**	0,6488**
T*E*U	6	3,3637**	1,4109**	0,2905**
Егго	120	0,1157	0,0602	0,0771
CV (%)		8,60	7,11	7,42

*significativo a 5% de probabilidade

TABELA 9A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos nas comparações feitas entre os resultados médios de viabilidade pelo teste de fenolítaleina e os de germinação e emergência em sementes de *Citromelo Swingle* durante o armazenamento. UFLA, Lavras - MG, 2001.

n, Harley and Andrea Carley and Maria Carlon and Provide Carlon Brown Providence	a nyang ngan dai ngananak sa sa sa		Quadrac	lo médio	
Fonte de variação	GL	0 mês	3 meses	6 meses	9 meses
Comparações	4	1188.13**	283.68**	247.74**	904.77**
Епто		80.12	7.39	8.20	110.34
CV (%)	31	12,86	2.99	3.11	15.64

** significativo a 1% de probabilidade

TABELA 10A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos no teste de condutividade elétrica em sementes de *Citromelo Swingle* em diferentes épocas de armazenamento e tempos de embebição. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Fonte de variação	GL	QM
Época (E)	3	1056.37**
Tempo (T)	2	118.61**
ExT	6	50.42**
Erro	36	5.38