

**APLICAÇÃO DO GA₃ NA SUPERAÇÃO DA
DORMÊNCIA E NA ATIVIDADE DA α -AMILASE
EM SEMENTES DE ARROZ E ALTERAÇÕES
FISIOLÓGICAS NO ARMAZENAMENTO**

ANTÔNIO RODRIGUES VIEIRA

2000

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Bibliografia Central da UFLA**

Vieira, Antônio Rodrigues

Aplicação do GA₃ na superação da dormência e na atividade da α-amilase em sementes de arroz e alterações fisiológicas no armazenamento / Antônio Rodrigues Vieira. -- Lavras: UFLA, 2000.

117 p. : il.

Orientador: Antônio Carlos Fraga.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Arroz. 2. Semente. 3. Dormência. 4. Ácido giberélico. 5. α-amilase.
6. Armazenamento. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.1868

-633.1821

ANTÔNIO RODRIGUES VIEIRA

**APLICAÇÃO DO GA₃ NA SUPERACÃO DA DORMÊNCIA E NA
ATIVIDADE DA α -AMILASE EM SEMENTES DE ARROZ E
ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS NO ARMAZENAMENTO**

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

APROVADA em 31 de março de 2000

Profª Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira

UFLA

Dr. João Almir Oliveira

UFLA

Profª Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias

UFV

Prof. Rubens Sader

UNESP


Prof. Dr. Antônio Carlos Fraga

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2000

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Antônio Carlos Fraga, pela orientação, apoio e amizade.

À professora e co-orientadora Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pelos valiosos ensinamentos, amizade e ajuda na condução desse trabalho.

Ao professor Renato Mendes Guimarães e ao pesquisador João Almir Oliveira, pela amizade, convivência e sugestões.

Aos professores Édila Vilela de Rezende Von Pinho, Maria Laene Moreira de Carvalho, Vânia Déa de Carvalho, Antônio Alves Soares, José da Cruz Machado, Custódio Donizete dos Santos e Sebastião Carneiro Guimarães, pela amizade e atenção sempre concedida.

Aos pesquisadores Paulo Oliveira, Mauro Lúcio de Oliveira, Renato Castro, Amaral, Brandão, Denise, Sttela e Renatinha, pela valiosa contribuição na condução dos experimentos e amizade.

Aos meus pais José Ibraim (in memorian) e Zaíra, exemplos de dedicação e amor.

À minha esposa Tatiana, pelo amor, carinho e compreensão.

Aos colegas do Setor de Sementes, Andréia, Maria de Lourdes, Ana Lúcia, Nilson César, Dinara e Elsa, pela amizade e coloraboração.

Aos amigos e colegas do Curso de Pós-graduação, pelo apoio, incentivo e convivência amiga.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO I	1
1 Introdução geral	1
2 Referencial teórico	2
2.1 Dormência de sementes	2
2.2 Ação do GA na superação da dormência	6
2.3 Ação da α -amilase durante a germinação	11
2.4 Detecção da atividade da alfa-amilase através das técnicas eletroforéticas e da espectrofotometria	15
2.5 Armazenamento de sementes	20
3 Referências bibliográficas	27
CAPÍTULO II: Aplicação do ácido giberélico (GA_3) na superação da da dormência e na atividade da α -amilase em sementes de arroz.	40
Resumo	40
Abstract	41
1 Introdução	42
2 Material e métodos	43
2-1 Preparo das sementes	43
2.2 Avaliações	44
2.2.1 Teste de germinação	44
2.2.2 Determinação da atividade da α -amilase e de proteínas	45
2.2.2.1 Eletroforese	45

2.2.2.2 Espectrofotometria	46
2.3 Procedimentos estatísticos	47
3 Resultados e discussão	47
3.1 Avaliação da eficiência de tratamento pre-germinativos	47
3.2 Atividade da α -amilase	52
4 Conclusões	54
5 Referências bibliográficas	55

**CAPÍTULO III: Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes
dormentes de arroz submetidas a diferentes ambientes de
armazenamento**

Resumo	57
Abstract	58
1 Introdução	59
2 Material e métodos	60
2.1 Preparo das sementes	60
2.2 Avaliações	61
2.2.1 Determinação do grau de umidade	62
2.2.2 Teste de germinação	62
2.2.3 Determinação da atividade da α -amilase e de proteínas	63
2.2.3.1 Eletroforese	63
2.2.3.2 Espectrofotometria	64
2.3 Procedimentos estatísticos	64
3-Resultados e discussão	65
3.1 Grau de umidade	65
3.2 Teste de germinação	66
3.3 Atividade da α -amilase	70
4 Conclusões	77

5 Referências bibliográficas	77
------------------------------------	----

**CAPÍTULO IV: Dormência e qualidade fisiológica de sementes de arroz
armazenadas em diferentes regiões do Estado de Minas**

Gerais	80
Resumo	80
Abstract	81
1 Introdução	82
2 Material e métodos	83
2.1 Preparo das sementes	83
2.2 Avaliações	84
2.2.1 Determinação do grau de umidade	84
2.2.2 Teste de germinação	84
2.2.3 Envelhecimento artificial	85
2.2.4 Índice de velocidade de emergência	85
2.2.5 Estande aos 12 dias e 21 dias	86
2.3 Procedimentos estatísticos	86
3 Resultados e discussão	87
3.1 Grau de umidade	87
3.2 Teste de germinação	89
3.3 Envelhecimento artificial	97
3.4 Índice de velocidade de emergência	99
3.5 Emergência aos 12 e 21 dias	101
4 Conclusões	105
5 Referências bibliográficas	105
 ANEXOS	 109

RESUMO

VIEIRA, Antônio Rodrigues. **Eficiência do GA₃ na superação da dormência de sementes de arroz e alterações fisiológicas durante o armazenamento.** Lavras: UFLA, 2000. 117 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Bioquímica e de Biotecnologia de Sementes dos Departamentos de Química e Agricultura, respectivamente, da Universidade Federal de Lavras-MG. Teve como objetivo avaliar aspectos relacionados à superação artificial e natural da dormência de sementes de arroz, cultivar Urucuaia, armazenadas em algumas regiões do Estado de Minas Gerais, utilizando-se de testes fisiológicos e da biotecnologia voltada para a área de sementes. Em uma primeira etapa, foi estudada a superação da dormência das sementes tratadas com ácido giberélico (GA₃), através de análises fisiológicas, químicas e de alterações nos perfis eletroforéticos de atividade da enzima α -amilase. Pelos resultados, pôde-se concluir que a embebição das sementes, em 30 ml de solução contendo 60 mg de GA₃/L H₂O por 36 horas pode ser utilizada como um tratamento rápido e eficiente na superação da dormência de sementes de arroz. O perfil de atividade apresentado pela α -amilase revela ser esta enzima um eficiente marcador do grau de dormência das sementes. Em uma segunda etapa, utilizando-se as mesmas análises da etapa anterior, avaliou-se a superação natural da dormência das sementes armazenadas em armazém convencional e câmara fria e seca, em Lavras e Patos de Minas, por um período de 12 meses. Pelos resultados, pôde-se concluir que as condições de armazenamento influenciaram na superação da dormência das sementes. Em ambiente de câmara fria e seca a superação da dormência foi mais lenta que em ambiente convencional; e que as mudanças nos perfis de atividade da α -amilase foram consistentes com as avaliações fisiológicas, confirmando ser esta enzima promissora na indicação da intensidade de dormência das sementes de arroz. Em uma terceira etapa, utilizando-se de testes fisiológicos, avaliou-se as alterações no período de dormência, a qualidade fisiológica e o potencial de armazenamento de sementes de arroz acondicionadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, armazenadas sob condições de armazém convencional, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba, por um período de 36 meses. Pelos resultados, pôde-se concluir que a dormência foi influenciada pelas condições de

* Comitê Orientador: Prof. Antônio Carlos Fraga - UFLA (Orientador), Profª Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira - UFLA, Profª Vânia Déa de Carvalho - UFLA, Prof. Antônio Alves Soares - UFLA, Pesq. João Almir Oliveira - UFLA.

armazenamento e que as embalagens influenciaram na conservação das sementes, variando em função do local e do período de armazenamento. As regiões Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba são promissoras para o armazenamento prolongado de sementes de arroz (28 e 31 meses respectivamente), porém, a região Zona da Mata - Leopoldina não apresenta condições favoráveis para armazenamento dessas sementes.

ABSTRACT

VIEIRA, Antônio Rodrigues. **GA₃ efficiency on dormancy break in rice seeds and physiological changes during storage.** Lavras: UFLA, 2000. 117 p. (Thesis - Doctorate in Plant Science).

The present research was developed in the Seed Biotechnology and Biochemistry laboratories of the Chemistry and Agriculture Departments of Lavras Federal University, respectively in Minas Gerais State. The goal was to evaluate aspects concerning the natural and artificial dormancy break in rice seeds, of the Urucua cultivar, stored in some regions of Minas Gerais State, using physiological tests and biotechnological resources of biotechnology turned to the seed area. In a first step, the overcome of the dormancy of seeds treated with gibberellic acid (GA₃), through physiological, chemical analyses and of alterations in the electrophoretic profiles os activity of α -amylase enzyme. The results showed that, the seed soaking in 30 mL of solution containing 60 mg GA₃/L H₂O during 36 hours, can be used as a quick and efficient treatment in rice seeds dormancy break. A second step, using the same analyses as in the last step, the natural break of dormancy in seeds stored in conventional warehouses and cold chambers, in Lavras and Patos de Minas, for a 12 months period was evaluated. The results indicate that the storage conditions affected seeds dormancy break. In a cold chamber environment the dormancy break was slower than in conventional warehouse environment and the changes in the activity profiles of α -amylase were consistent with the physiological evaluations, confirming that this enzyme is a promissing indicator of rice seed dormancy. In the third step, by using physiological tests, changes in the dormancy period, the physiological quality and the storage potential of rice seeds packed in multilayer paper and polyethylene bags, stored under conventional warehouse conditions, in the Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas and Norte de Minas - Janaúba regions, for 36 months were evaluated. The results showed that, the dormancy was affected by the storage conditions and the kinds of containers. Alto Paranaíba - Patos de Minas and Norte de Minas - Janaúba are promissing for the rice seeds storage over a long period (28 and 30 months respectively), and Zona da Mata - Leopoldina region did not present good conditions for the storage of those seeds.

* Guidance Committee: Prof. Antônio Carlos Fraga - UFLA (Major Professor), Prof. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira - UFLA, Prof. Vânia Déa de Carvalho - UFLA, Prof. Antônio Alves Soares - UFLA, Res. João Almir Oliveira - UFLA.

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

O arroz é uma das principais fontes de calorias na alimentação humana de diversos países, inclusive o Brasil. Segundo o IRRI Rice Almanac (1993), o arroz fornece 20% da energia e 15% da proteína na alimentação humana mundial. É um dos alimentos básicos da população brasileira, ocupando posição de destaque do ponto de vista econômico e social, sendo seu cultivo altamente difundido em todas as unidades da federação.

Em se tratando de sementes, os testes determinantes da qualidade fisiológica em arroz, logo após a colheita, são fundamentais para a tomada de decisões em relação ao destino das mesmas. Porém, a alta intensidade de dormência apresentada durante um longo período, pelas sementes das cultivares irrigadas de arroz, contribui para dificultar o trabalho do sistema de produção e controle em avaliar precisamente a qualidade fisiológica dessas sementes, para fins de imediata comercialização. Embora essa dormência possa ser superada em alguns meses, quando as sementes são armazenadas à temperatura e umidade relativa ambiente, variações climáticas podem reduzir drasticamente a viabilidade dessas sementes, comprometendo assim, o potencial de armazenamento em determinados locais, principalmente para sementes genéticas e básicas, as quais eventualmente necessitam ser armazenadas para plantio no ano seguinte.

No presente trabalho, alguns aspectos metodológicos aplicados ao monitoramento da qualidade fisiológica de sementes de arroz foram desenvolvidos, utilizando-se de testes fisiológicos e dos recursos da biotecnologia voltada para a área de sementes. Foram consideradas três

pesquisas, em que, nas duas primeiras, através de análises fisiológicas, químicas e de alterações nos perfis isoenzimáticos de atividades da enzima α -amilase, avaliou-se a superação da dormência em sementes de arroz tratadas com ácido giberélico e em sementes armazenadas em diferentes condições de temperatura e umidade. Na outra, utilizando-se de testes fisiológicos, avaliaram-se as alterações no período de dormência e na qualidade fisiológica de sementes de arroz armazenadas sob condições de armazém convencional, em diferentes regiões do estado de Minas Gerais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Considerando que o crescimento populacional implicará em maior consumo de alimentos básicos, principalmente arroz, informações importantes sobre a qualidade das sementes logo após a colheita e durante o período de armazenamento, poderão tornar-se em uma estratégia segura e fundamental de se controlar e preservar a qualidade fisiológica dessas sementes.

2.1 Dormência de sementes

Dormência é o fenômeno pelo qual as sementes são impedidas de germinar, mesmo sob condições ambientais normalmente favoráveis à germinação (Copeland, 1976). É um mecanismo que desempenha um papel de fundamental importância ecológica, atuando na manutenção e dispersão das espécies vegetais, nas mais diferentes condições de clima e solo, garantindo, desta maneira, a sobrevivência das espécies (Carvalho e Nakagawa, 1988; Bianchetti, 1991).

A dormência torna-se especialmente inconveniente para o homem, quando se deseja determinar a viabilidade das sementes. Muitas vezes deseja-se

fazer esta determinação logo após a colheita, entretanto, este fenômeno, em algumas espécies, cria obstáculos aos analistas na obtenção dessas informações, como é o caso de determinadas cultivares de arroz (Dias e Shioga, 1997).

Segundo Franco et al. (1997), as sementes de arroz caracterizam-se por apresentar dormência pós-colheita, que pode persistir de 90 a 120 dias, dependendo da cultivar. Mas de acordo com Jennings e Jesus Junior (1964) e Bewley e Black (1994), a dormência diminui com o período de armazenamento, principalmente com a elevação da temperatura.

A dormência em sementes de arroz tem sido atribuída ao complexo casca (glumelas) e pericarpo, associados a fatores físicos e químicos. Roberts (1962) relatou que as estruturas de cobertura (casca e pericarpo) agem como barreira física e filtro químico à entrada de oxigênio. Delouche e Nguyen (1964) afirmaram que somente a remoção da casca não superava a dormência, mas a ruptura do pericarpo próximo à região escutelar, promovia a germinação. Por outro lado, Seshu e Sorrells (1986) observaram que a dormência em sementes de arroz imposta pela casca é mais prolongada que a imposta pelo pericarpo, e que casca e pericarpo agem independentemente na imposição dessa dormência. Deste modo, segundo Seshu e Dedlani (1991), uma análise crítica dessas informações também sugere que o modo de ação do fator casca poderia diferir daquele do pericarpo, o que explicaria, assim, as diferenças na severidade da dormência entre as diferentes cultivares.

Dentre os fatores apontados como indutores da dormência em sementes de arroz, destacam-se as substâncias inibidoras da germinação, temperaturas elevadas (30°C) após a floração e a impermeabilidade ao oxigênio promovida pelo complexo casca (glumelas) e pericarpo (Edwards, 1973; Amaral, 1992; Bewley e Black, 1994).

A grande importância da impermeabilidade a gases, segundo Castro e Alvarenga (1996) deve-se ao fato de que, para que outros mecanismos de

dormência, passíveis de estarem presentes nas sementes, possam ser superados, a semente precisa, inicialmente, ativar seu sistema metabólico. Ou seja, somente após vencida a impermeabilidade a O_2/CO_2 é que os demais impedimentos à germinação, quando for o caso, poderão ser eliminados.

De acordo com Edwards (1973) e Vieira (1991), em sementes de arroz, a restrição à entrada de oxigênio na semente deve-se à presença de compostos fenólicos na casca, embora estes possam ocorrer em outros tecidos, como no embrião. Tais compostos fixam o oxigênio que está sendo absorvido, de forma que a quantidade deste gás que chega ao interior da semente não é suficiente para possibilitar a sua germinação. Cícero (1986) atribui o consumo de oxigênio pelo tegumento em algumas espécies, à oxidação de vários compostos fenólicos, tais como floridizin, ácido clorogênico, e ácido para-cumaril-químico, reconhecidamente presentes na casca. No caso de sementes de arroz, a dormência pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos inibidores da germinação localizados no endosperma, embrião e casca, com maior concentração no embrião, promovendo redução na disponibilidade do oxigênio para o mesmo (Hayashi, 1987 e Amaral, 1992).

Em sementes recém-colhidas de arroz, segundo Côme e Tissaque (1973) e Vieira (1991), a embebição dificulta, sobremaneira, a absorção de oxigênio, pois a ação fixadora dos compostos fenólicos alia-se à formação de uma película de água em torno da semente, dificultando ainda mais a difusão deste gás até o embrião. Entretanto, quando se utiliza o armazenamento da semente seca por um determinado período, existe a possibilidade de ocorrer a difusão lenta e paulatina de O_2 para o seu interior, determinando a redução gradativa da quantidade de inibidores da germinação, favorecendo desta maneira, a superação da dormência e, conseqüentemente, a sua germinação (Olatoye e Hall, 1972).

De acordo com Dietrich (1986), as substâncias de natureza fenólica, são inibidores que atuam como reguladores, retardando os processos de crescimento

e desenvolvimento de plantas, tais como alongamento de raízes e caules, a germinação de sementes e o brotamento de gemas. Desta forma, a presença de compostos fenólicos inibidores da germinação foi detectada por Vieira (1991), em extrato metanólico de sementes dormentes de arroz, através do bioteste de inibição da germinação de sementes de alface. Segundo o autor, os citados compostos demonstraram efeito no sentido de retardar a germinação das referidas sementes utilizadas no bioteste.

De acordo com Buraas e Skinnnes, citados por van Beckum e Wang (1994), o potencial genético e os fatores climáticos na época do desenvolvimento da semente, determinam o nível de dormência durante o período de maturação. Em condições de temperatura e umidade relativa altas, durante o período de maturação, Takahashi (1984) observou que as sementes de arroz exibiram forte dormência, concluindo que esse comportamento parece ser adaptativo para impedir a germinação sob condições desfavoráveis. Jennings e Jesus (1964) também haviam observado uma correlação entre baixa germinação e resistência à quebra de dormência em sementes de arroz, cuja maturação ocorreu em período chuvoso e com alta umidade relativa. Segundo Nair, Ponnaiya e Raman (1965), o período de dormência das sementes de arroz de cultivares precoces, é mais longo quando elas são colhidas na estação úmida do que na estação seca. Vieira (1975) demonstrou que existem fases distintas na intensidade da dormência, durante o período de maturação das sementes de arroz e, também, menor resposta aos tratamentos para superar a dormência, daquelas cultivares colhidas em um estágio mais precoce e com maior dormência.

De acordo com Bewley e Black (1994), fatores ambientes ocorrentes durante o desenvolvimento das sementes podem determinar o grau de dormência pós-colheita, pois devem interferir nos níveis de promotores e inibidores da germinação. Possivelmente, causam também mudanças no fluxo de reguladores de crescimento da planta-mãe para a semente. Sendo assim, Amaral e Gonçalo

(1977) afirmaram que a variação no grau de dormência, conforme o ano de cultivo para uma mesma cultivar, e que esta, associada a outras características próprias da cultivar, irão propiciar a escolha do método para superar a dormência.

Segundo Dias e Shioga (1997), a intensidade de dormência de um lote de sementes de arroz interfere diretamente na eficiência dos tratamentos utilizados para sua superação. Sendo assim, Vieira et al. (1994) demonstraram que o tratamento mais eficiente para superar o alto grau de dormência das sementes recém-colhidas de arroz irrigado, foi a pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias.

2.2 Ação do GA na superação da dormência

Em sementes de gramíneas, os mecanismos de dormência se enquadram, principalmente, no sistema de controle do equilíbrio entre substâncias promotoras e inibidoras do crescimento proposto por Amen (1968). Este autor postulou que o seu funcionamento se dá por meio de alguns subsistemas, tais como subsistema sensível à luz, subsistema sensível ao oxigênio e/ou ao gás carbônico, dentre outros, que podem ser interrelacionados, podendo se sobrepor principalmente no que se refere aos efeitos de determinados agentes para superação da dormência.

A dormência em sementes com embriões maduros, os quais não são restringidos pelos tecidos de cobertura, provavelmente resulta da falta de integração dos sistemas metabólicos interligados, requeridos para germinação (Taylorson e Hendricks, 1977). Porém, a dormência de sementes de arroz, aparentemente, parece estar relacionada com a presença de inibidores na cobertura da semente. De acordo com Ketring (1973), os inibidores naturais da germinação são, em geral, moléculas orgânicas relativamente simples e de baixo peso molecular, como aldeídos, ácidos fenólicos, alcalóides e ácidos orgânicos.

Segundo Milborrow (1984), o extrato de plantas superiores contém, invariavelmente, considerável quantidade de ácidos fenólicos inibidores de crescimento. Neste sentido, Vieira (1991) e Bewley e Black (1994) relataram que a oxidação de compostos fenólicos, assim como a alta atividade respiratória em tecidos da cobertura de sementes, tais como o arroz, limitariam a disponibilidade de oxigênio para o embrião.

Além dessas possíveis causas de dormência, que afetam direta ou indiretamente o metabolismo dos carboidratos, das proteínas e de outras reservas das sementes, durante o processo germinativo, outro fator de controle da germinação e dormência é atribuído ao balanceamento entre hormônios reguladores de crescimento, que têm papel fundamental na reposta germinativa das sementes (Amen, 1968; Barbosa, 1978).

O regulador de crescimento que tem recebido atenção considerável no que diz respeito à dormência é o ácido abscísico, uma vez que ele tem importante papel na indução e manutenção da dormência das sementes (Walker-Simmons e Sessing, 1990; Wang et al., 1994; Wang, Heimovaara-Dijkstra, 1995). Bewley e Black (1994) têm dito que, em arroz, a diferença entre as cultivares dormentes e não dormentes seria o fato das cultivares dormentes reterem este ácido durante a maturidade. Entretanto, Carvalho e Nakagawa (1988) consideraram que não apenas a presença de um inibidor de germinação esteja causando a dormência das sementes, mas que exista uma relação entre as concentrações de inibidores e estimuladores de crescimento responsáveis por esse efeito, bem como, algum mecanismo que altere a sensibilidade das sementes ao promotor/inibidor.

A aplicação de reguladores de crescimento, tais como auxinas, citocininas, giberelinas e outros, tem sido efetuada com resultados positivos na quebra da dormência de sementes (Koller et al., 1962). Destes reguladores, as giberelinas têm função primordial, uma vez que sua aplicação exógena, além de contrabalançar a inibição imposta pelo ácido abscísico, provoca um aumento

endógeno de GA, induzindo o crescimento do embrião e estimulando o processo germinativo, o que torna evidente sua participação na superação da dormência das sementes (Taylorson e Hendricks, 1977; Seshu e Dadlani, 1991; van Beckum, Libbenga e Wang, 1993; Wang et al., 1998).

As giberelinas, mais do que qualquer outro hormônio vegetal, têm papel chave na germinação de sementes, estando envolvidas, tanto na quebra de dormência, como no controle da hidrólise de reservas, da qual depende o embrião em crescimento (Khan, 1971; Metivier, 1979; Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989). A presença de ácido giberélico (GA₃) nas sementes de cereais, em níveis endógenos adequados, parece ser um requisito essencial para que haja germinação (Paleg, Sparrow e Jennings, 1962; Tanaka, Ito e Akazawa, 1970; Steinbach, Benech-Arnold e Sánches, 1997), sendo este hormônio continuamente requerido durante todo o processo germinativo (Chrispeels e Varner, 1967 b).

Segundo Bewley e Black (1994), uma parte do metabolismo, que pode ser particularmente importante para a germinação, é a síntese de ácidos nucléicos e proteínas, podendo ser a chave para a descoberta das diferenças entre as sementes dormentes e as não dormentes. Talvez as sementes dormentes apresentem uma falha na tradução de certas enzimas, por causa de uma incapacidade em transcreever os genes próprios. Entretanto, Roberts (1973a) ponderou sobre a possibilidade de a ação de giberelinas na superação de dormência ocorrer, através da desrepressão do genoma, permitindo a síntese de RNA e, conseqüentemente, levando à síntese protéica. Já Jones e Mc Millan (1984) consideraram que, além do efeito quantitativo da síntese de todas classes de RNAs, as giberelinas produziam um efeito qualitativo pela indução de enzimas específicas, como na aleurona de cereais.

Bradbeer (1988) observou na germinação de sementes de gramíneas, que o GA₃ difunde do embrião para provocar a síntese, ativação e secreção de



enzimas hidrolíticas pelas células de aleurona, seguidas pela hidrólise de polissacarídeos de reserva, proteínas, lipídios e etc., e a absorção dos produtos solúveis pelo escutelo do embrião germinante. Assim, segundo o mesmo autor, a incapacidade para germinar pode ser devido a um bloqueio à mobilização de reservas embriônicas ou extra-embriônicas.

Segundo Paleg, Sparrow e Jennings (1962) e Ogawa (1966a), o GA_3 é um dos reguladores de crescimento que induz a hidrólise das proteínas de reservas e ativa os sistemas amilolíticos do endosperma nas sementes de arroz e cevada, liberando açúcares redutores e aminoácidos que se translocam para o eixo embrionário, resultando numa diminuição da matéria seca do endosperma.

De acordo com Seshu e Dadlani (1991), estudos têm sido realizados com algumas substâncias químicas para superar a dormência de sementes de arroz, dentre as quais destacam-se o GA_3 . Analisando a aplicação de 300 ppm de GA_3 no substrato de germinação para sementes intactas e sementes sem casca de arroz, estes autores observaram uma melhoria na germinação das sementes intactas, embora o efeito tenha sido diferenciado entre as diversas cultivares dormentes estudadas. Entretanto, eles notaram ainda que a influência da aplicação do GA_3 foi muito mais pronunciada nas sementes sem casca, do que nas sementes intactas.

Barbosa (1978), trabalhando com sementes de arroz, verificou que o tratamento do substrato com GA_3 na concentração de 50 μM por período de 3 dias, foi suficiente para induzir a germinação das sementes dormentes; ao passo que, na concentração de 150 μM em mesmo período de tempo, não houve aumento significativo da germinação. Em trabalho realizado com sementes dormentes de mostarda, Silveira (1995) observou que o tratamento onde se utilizou o GA_3 a 0,05%, promoveu alta germinação das sementes, com desenvolvimento proporcional das estruturas das plantas.

Silva Filho, Villela e Lima (1996), em pesquisa realizada com triticale, observaram que o tratamento com GA₃ não deve ser utilizado na quebra de dormência das sementes, quando o teste de germinação for conduzido à temperatura de 15°C. Por outro lado, Lecat, Corbineau e Comê (1992), estudando o efeito do GA₃ na germinação de sementes dormentes de aveia à temperaturas entre 5°C e 30°C e concentrações de oxigênio da ordem de 0% a 21%, concluíram que o GA₃ estimulou a germinação das sementes a altas temperaturas e em baixa concentração de oxigênio, anulando assim a ação inibitória das estruturas que envolvem o embrião. Segundo relataram ainda esses autores, quanto menor a temperatura e menor a concentração de oxigênio, mais forte é a inibição provocada pelas estruturas de cobertura (casca e pericarpo) dessas sementes.

Para Luengo (1994), embora exista variabilidade genética entre os genótipos de batata doce, em relação à dormência, a aplicação de 5, 10 e 15 mg.L⁻¹ de GA₃ não demonstrou efeito sobre a brotação de raízes de duas cultivares testadas.

Ramos (1994), trabalhando com GA₃ nas dosagens de 0, 25, 50 e 100 mg/litro de água e tempos de 0, 6, 12 e 24 h de imersão, observou que a medida que se aumentou a dosagem de GA₃ maior foi a porcentagem de sementes de tangerina germinadas a 0 h e 6 h de imersão.

De acordo com Khan, Goss e Smith (1957), a giberelina pode substituir, aparentemente, a radiação vermelha em sementes de alface sensíveis à luz e, neste caso, a luz estimularia a germinação através da síntese de giberelina (Chen e Varner, 1973). O fitocromo ativo produzido por irradiação, durante as fases iniciais de embebição, poderia criar condições, nas quais o efeito da adição de promotores de crescimento é aumentado (Reynolds e Thompson, 1973).

Entretanto, é provável que algumas espécies vegetais não respondam ao efeito indutor de giberelina. É o caso de *Stylosanthes humilis*, segundo Burin

(1979), onde a aplicação de GA₃ não promoveu a quebra da dormência das sementes; nem o emprego de bloqueadores da síntese de ácido giberélico foi capaz de inibir a germinação de sementes não-dormentes.

Apesar das informações sobre as funções dos hormônios vegetais no controle da germinação e dormência de sementes, onde o GA aparece como fator primário na ativação da germinação e os inibidores como fator preventivo (Khan, 1971), ainda não está bem definido como os inibidores naturais têm atuado na germinação. Os modos de ação propostos para tais substâncias são efeitos osmóticos em mudanças de pH, inibição da respiração, alteração da permeabilidade das membranas, atividade antigiberelina, inibição da síntese de proteínas, etc. (Ketring, 1973).

2.3 Ação da α -amilase durante a germinação

As plantas que sintetizam amido como reservas e os organismos que dependem da digestão do amido, possuem várias enzimas capazes de converter amido em glicose.

De acordo com Nedel, Assis e Carmona (1996), dentro de um grupo de enzimas, a α e a β -amilases estão envolvidas no principal sistema de degradação do amido. Sendo assim, o embrião produz o GA₃ que é transportado até a camada de aleurona, estimulando a síntese de hidrolases, principalmente a α -amilase, que são secretadas para o endosperma onde, juntamente com as outras enzimas que são reativadas e/ou sintetizadas de novo, irão degradar o amido.

A α -amilase (α -1,4 glicano 4- glicanohidrolase E.C. 3. 2. 1. 1), é uma endo-enzima que hidrolisa, ao acaso, as ligações glicosídicas α -1,4 no interior da molécula de amilose e amilopectina que constituem o amido, produzindo uma mistura de maltodextrina, onde predominam maltose, maltotriose e dextrinas ramificadas (Kulp, 1975).

O padrão de ação da α -amilase sobre o amido depende, principalmente, do estado em que se encontra o substrato e da fonte de origem da enzima (Kulp, 1975). Se o substrato for amilose (fração linear do amido) e a α -amilase for de cereais, a enzima realiza inicialmente uma completa e rápida degradação de amilose em maltose e maltotriose, resultado de ataques aleatórios no substrato pela enzima. Típico desta quebra é a rápida perda de viscosidade e da coloração do amido. O segundo passo é mais lento que o primeiro, envolvendo uma pequena hidrólise de oligossacarídeos, com formação de glicose e maltose como produtos finais. Este segundo estágio não segue um padrão de ação aleatório (Kulp, 1975).

Se o substrato for amilopectina (fração ramificada do amido), a α -amilase de cereais produz inicialmente glicose, maltose e uma série de α -dextrinas limites que, após prolongada hidrólise, dão origem a uma mistura de grandes e pequenas dextrinas ramificadas (Ciacco e Cruz, 1982).

Entretanto, embora este sistema enzimático seja capaz de hidrolisar o amido em seu sistema natural (granular), a suscetibilidade de grânulo à ação enzimática é consideravelmente aumentada, quando este se encontra na forma gelatinizada. A velocidade de hidrólise do amido gelatinizado pela ação da α -amilase é de 165 a 700 vezes maior que o do amido "in natura" (Whitaker, 1972).

Em sementes de cereais, o desenvolvimento da atividade da amilase constitui um importante evento, podendo ser detectado durante o início da germinação. A atividade é essencial para produzir energia e esqueletos de carbono para o crescimento de embriões, através da decomposição de substratos utilizáveis na respiração (Das e Sen-Mandi, 1992b). O principal papel das amilases é providenciar substratos para utilização da plântula, até que ela se torne fotossinteticamente auto-suficiente.

Em trabalho realizado com sementes de arroz, Shaw e Ou-Lee citados por Das e Sem-Mandi (1992a), chegaram à conclusão que a atividade da α -amilase é necessária para a germinação das sementes. Entretanto a amplitude da atividade da amilase, provavelmente, determina a habilidade da germinação das sementes dos cereais. Em sementes com reduzida viabilidade, a atividade da amilase tem se mostrado pequena (Aspinall e Paleg, 1971; Petruzzelli e Taranto, 1990; Livesley e Bray, 1991).

Um grande número de tipos de dormência de sementes decorre do bloqueio da ação da α -amilase. Sendo a ocorrência desta enzima largamente distribuída nas plantas no mundo, associada principalmente com a β -amilase, a α -amilase presente nas sementes dormentes encontra-se em pequenas quantidades, mas durante a germinação todas as sementes rapidamente desenvolvem esta enzima. Desta maneira a α -amilase pode ser prontamente encontrada nas sementes em germinação (Meyer, 1976).

Chrispeels e Varner (1967a) enfatizaram que a síntese da β -amilase é completamente diferente da α -amilase, a qual é induzida pelo GA_3 no início da germinação das sementes. De acordo com Radley (1967, 1969) e Okamoto e Akazawa (1980), a formação da α -amilase no endosperma de sementes de arroz e cevada é controlada pelo ácido giberélico, o qual é secretado inicialmente pelo escutelo. Entretanto, esta secreção escutelar é controlada pelo eixo embrionário. Sendo assim, estas giberelinas endógenas produzidas e liberadas pelo embrião e o escutelo são transportadas para a camada de aleurona, ativando a "síntese de novo" de α -amilase e proteases. Estas são liberadas no endosperma que, então, fornece ao embrião, açúcares e aminoácidos durante o seu desenvolvimento inicial.

Segundo Mori, Kumazawa e Mitisui (1965) e Ogawa (1966a), a α -amilase é uma enzima amilolítica sintetizada de novo em arroz. Desta maneira,

Murata, Akazawa e Fukuchi (1968) e Nomura, Kono e Akazawa (1969) têm demonstrado, em resultados experimentais de análises químicas e determinação de atividade enzimática, que a rota amilolítica é o maior mecanismo para a quebra de reserva do amido no tecido do endosperma de sementes de arroz germinando. Estes autores demonstraram ainda que a síntese de α -amilase em sementes de arroz germinando, resulta no desaparecimento do amido do endosperma e no aparecimento de açúcares redutores. Estas informações estão de acordo com os resultados reportados por diversos trabalhos de formação de α -amilase induzida pelo ácido giberélico, em sementes de arroz e cevada germinando (Varner, Chandra e Chrispeels, 1965; Ogawa, 1966a; Ogawa, 1966b; Tanaka e Akazawa, 1970).

Diversos tipos (classes) de α -amilases podem ser avaliadas em trigo, através da atividade em sementes secas e em sementes germinando. Isto é importante para caracterizar a síntese de novo da α -amilase no desenvolvimento, maturação e germinação das sementes de trigo (Dussant, 1977). Segundo Kneen (1944) e Sandstedt e Beckord (1946), a atividade da α -amilase presente em sementes em desenvolvimento desaparece durante a maturação e reaparece em grande quantidade durante a germinação. De acordo com Kruger (1972a) e Dussant e Renard (1976) uma série de α -amilases aparece presente nas sementes em desenvolvimento, sendo eletroforeticamente idênticas às α -amilases das sementes germinando. Entretanto, segundo os mesmos autores, as α -amilases que aparecem em sementes em desenvolvimento são específicas para este fim, considerando que a maior parte da atividade na germinação das sementes parece ser devido a enzimas não presentes nas sementes em desenvolvimento.

De uma maneira geral, para Sandstedt (1946) e Kruger (1972a e b), a α -amilase que ocorre em cereais durante a germinação é conhecida por ser sintetizada na camada de aleurona, e as enzimas encontradas em sementes em

desenvolvimento, entretanto, têm sido localizadas no pericarpo. Assim, a α -amilase secretada pela camada de aleurona pode, in vivo, difundir-se lentamente para o interior do endosperma modificando parte do amido, enquanto que a α -amilase situada no pericarpo terá menor oportunidade para degradar, in vivo, o amido do endosperma. De modo semelhante, Kanzaki, Kawabata e Noda (1993) relatam que as isoenzimas de α -amilase de alto ponto isoelétrico, são secretadas para o endosperma mais cedo que outras enzimas e desempenham uma importante função na degradação do amido, num estágio precoce na fase de germinação das sementes. Neste contexto, Murata, Akazawa e Fucuchi (1968) encontraram resultados, os quais apresentam evidências mostrando a formação induzível de α -amilase no tecido do endosperma de sementes de arroz germinando.

Entretanto, apesar de extensivas investigações e, embora haja uma boa possibilidade de que cada semente de um determinado cereal tem seu mecanismo característico para hidrolizar materiais de reserva, até agora nenhum mecanismo unificado tem estado presente nos diferentes tipos de sementes de cereais relatando hidrólise enzimática de amido de reserva.

2.4 Detecção da atividade da α -amilase por meio das técnicas eletroforéticas e da espectrofotometria

A eletroforese, palavra grega que significa "transporte pela eletricidade", é uma técnica bioquímica relativamente simples, rápida e de alto valor informativo, que consiste na separação de macromoléculas ionizadas de acordo com suas cargas elétricas, formas e pesos moleculares, através da migração em um meio suporte e tampões adequados sob a influência de um campo elétrico. Moléculas com carga negativa migram para polo positivo e moléculas com carga positiva migram para polo negativo (Alfenas et al., 1998; Westermeier, 1993).

Embora os princípios desta técnica já fossem conhecidos desde o século passado, somente a partir de 1926, ela teve um grande impulso, quando Sammer conseguiu isolar e cristalizar a enzima urease, demonstrando que enzimas e proteínas são moléculas que podem ser purificadas (Markert, 1983).

Diferentes meios suportes foram trabalhados, visando a caracterização de proteínas através da modalidade eletroforética. Destes meios, destaca-se a eletroforese em gel de Poliacrilamida - PAGE introduzida em 1950 (Anti, 1991), pela sua praticidade e por propiciar alta resolução.

Segundo Carraro (1990), a técnica SDS-PAGE, onde o dodecil sulfato de sódio (SDS), um detergente aniônico, liga-se às regiões hidrofóbicas de proteínas, para separar a maioria em suas unidades componentes, e faz com que as proteínas percam seu efeito de carga específica, separando-se, devido às suas diferenças de pesos moleculares, está entre as técnicas que permitem melhor resolução de bandas, tornando possível a avaliação em nível qualitativo (ausências/presença) e quantitativo (diferença de concentração dos polipeptídeos existentes em uma amostra).

Após a separação física no gel, as proteínas são detectadas através de procedimentos de coloração apropriada, formando padrões de bandas. Até mesmo 0,1 mg de uma proteína apresenta uma faixa distinta, quando corada com coomassie blue. Proteínas com massas diferindo em cerca de 2% (diferença de cerca de 10 aminoácidos) podem, geralmente, ser distinguidas (Westermeier, 1993).

Segundo Alfenas et al. (1998), a resolução em géis de poliacrilamida foi melhorada com a introdução, na década de sessenta, do sistema descontínuo, onde dois sistemas de géis, gel separador e gel concentrador, e de solução tampão dos géis (Tris - HCL) diferente daquele dos eletródos (Tris - glicina) são utilizados. Enquanto no gel concentrador, as moléculas de proteínas concentram-

se numa banda estreita e compacta, no gel separador, elas se separam de acordo com seus respectivos tamanhos moleculares (peneiramento molecular).

Comparando com as outras técnicas, a eletroforese em gel de poliacrilamida requer somente pequena quantidade de amostra, permite a análise simultânea de diversas amostras e confere rápida separação com alta resolução (Boulter, Thurman e Derbyshire, 1976). Eletroforese tem tido grande aplicação no estudo de proteínas com respeito à regulação genética e bioquímica, propriedades físico-químicas, ontogenia, especificidade e papel fisiológico na taxonomia entre outras.

Uma grande vantagem desta técnica é a reprodutibilidade de resultados, o que é conseguido desde que não haja mudanças na metodologia eletroforética, que os extratos sejam preparados de um modo comum, a partir de órgãos comparáveis, em um mesmo estágio de desenvolvimento, e que sejam submetidos à eletroforese de uma maneira idêntica (Verneti, 1983).

Além de efetuar a extração à baixa temperatura, estabilizadores de atividade enzimática podem ser adicionados ao tampão de extração, visando melhorar a resolução de certas enzimas.

Para eletroforese de isoenzimas não se utiliza o detergente dodecil sulfato de sódio (SDS) no sistema, para que não haja desnaturação, uma vez que estas são identificadas no gel, por reação de coloração baseada em sua atividade catalítica (Gottlieb, 1977).

O termo isoenzima foi proposto por Market e Moller (1959), para descrever formas moleculares múltiplas de uma mesma enzima, que ocorre num mesmo organismo e com afinidade pelo mesmo substrato. Estas formas têm usualmente semelhantes, se não idênticas, propriedades enzimáticas, mas pequenas diferenças na sequências de aminoácidos (Bonde, Micales e Peterson, 1993).

As isoenzimas podem se originar de três diferentes fenômenos genéticos e bioquímicos: a) diferentes alelos de um mesmo locus, b) múltiplos loci codificando para uma mesma enzima e c) modificações pós transcricionais e formação de isoenzimas secundárias (Bonde, Micales e Peterson, 1993).

O conhecimento das mudanças bioquímicas através da análise de isoenzimas e outros compostos de processos metabólicos, envolvendo reações em diferentes níveis e intensidade, é fundamental na busca de marcadores que revelem com a máxima segurança a condição do material em exame. Este aspecto é importante, uma vez que a utilização de algum tipo de marcador em muitas áreas de pesquisa em plantas, tem sido uma importante ferramenta requerida em vários estudos, para avaliar os propostos estabelecidos.

Segundo Bragantini (1985), embora já existam diversas técnicas utilizando atividade enzimática como medida de viabilidade de sementes, somente algumas das muitas enzimas envolvidas no processo, têm sido investigadas. Carraro (1990) afirmou que a eletroforese, através da detecção de alterações na composição protéica e de enzimas específicas, pode ser eficiente ferramenta para o acompanhamento da qualidade das sementes durante o armazenamento.

Chauhan, Copinathan e Babu (1985) verificaram em seus estudos sobre variações eletroforéticas de proteínas e enzimas de soja e cevada, que as bandas de proteínas e enzimas podem atuar como marcadores moleculares na avaliação da qualidade de sementes. De acordo com os autores, perfis eletroforéticos de proteínas e enzimas de sementes bastante envelhecidas parecem com o daquelas sementes vigorosas e com 24 a 48 horas de germinação, o que sugere que sementes envelhecidas passaram por todas as mudanças bioquímicas necessárias para o processo de germinação, resultando na perda da viabilidade. Citaram ainda, os autores, que a presença de um grande número de bandas em sementes secas indicaram que existe uma atividade de genes que controlam o início da

germinação e também a expressão de várias outras características fenotípicas, durante o processo de envelhecimento.

Segundo Okamoto e Akazawa (1978), as moléculas de α -amilase sintetizadas de novo na camada de aleurona de arroz, pela ação disparadora do ácido giberélico, que consistem de componentes múltiplos, são detectáveis por várias técnicas, tais como a cromatografia de transferências de ions, eletroforese e isoeletrofocalização.

Jacobsen e Higgins (1982), analisando a síntese de α -amilase na camada de aleurona de sementes de cevada do Himalaia em resposta à aplicação do ácido giberélico, encontraram quatro frações (α -amilases 1 a 4), as quais foram divididas em dois grupos (A e B) com base no número de características. Estes autores detectaram que, para o aparecimento de atividade da enzima do grupo B, eram requeridos um nível mais elevado de GA_3 e um tempo maior que no grupo A, e que, embora os componentes de cada grupo comportassem similarmente, diferenças nos zimogramas eram detectadas. Esses resultados indicam que o GA_3 diferentemente controla a expressão dos dois gens de α -amilase ou grupos de gens, dando origem a dois grupos de α -amilase com muitas propriedades diferentes. Resultados semelhantes foram encontrados por Akaeva e Fursov, citados por Das e Sen-Mandi (1992a), que mostraram a presença na forma latente, de 3 componentes de α -amilase (dependente da mobilidade eletroforética), na camada de aleurona de sementes de trigo.

Rood e Larsen (1988), investigando o possível envolvimento de giberelinas e amilases na manifestação do vigor híbrido de plântulas de milho, constataram, através da eletroforese e da espectrofotometria, que a alta concentração endógena de ácido giberélico pode resultar no aumento da atividade da amilase e, conseqüentemente, na hidrólise mais rápida do amido, o qual proporciona um crescimento mais acelerado das plantas híbridas.

Trabalhando com análise colorimétrica, Seshu e Dadlani (1991) concluíram que a dormência de sementes de arroz é resultado da acumulação combinada de SCSFAS (pequena cadeia de ácidos graxos saturados) e ácido abcísico na casca e no pericarpo durante a maturação, uma vez que ambos inibem as giberelinas e, conseqüentemente, a atividade da amilase na germinação dessas sementes. Entretanto, segundo estes autores, a aplicação exógena de agentes oxidantes (GA_3) e de tratamentos com temperatura elevada, podem liberar a dormência das sementes.

Com base nas revisões bibliográficas, constatou-se que os trabalhos sobre utilização da espectrofotometria na análise de atividade da amilase não são muito comuns na literatura, resultando em poucas informações sobre esta técnica.

2.5 Armazenamento de sementes

O armazenamento das sementes se inicia no momento em que a maturidade fisiológica é atingida no campo, sendo este o ponto de maior qualidade. Dependendo das condições ambientais e de manejo, pode haver a seguir, a redução da qualidade fisiológica das sementes, pela intensificação do fenômeno da deterioração (Harrington, 1971). Segundo Hall (1974) e Freitas (1992), as etapas, desde a colheita até o armazenamento, quando mal conduzidas, podem constituir causas de danos, os quais, muitas vezes, somente são manifestados ao longo do período de armazenamento.

Após a semente ter atingido seu ponto máximo de qualidade fisiológica, fatores adversos devem ser eliminados para que essa qualidade seja preservada. Desde que a semente tenha sido colhida, seca e beneficiada, eliminando-se fatores desfavoráveis que reduzem a qualidade fisiológica durante essas operações, a preservação da qualidade fica na dependência das condições de armazenamento da semente (Popinigis, 1985).

Segundo Delouche et al. (1973), as sementes são armazenadas por duas razões: primeiro, porque existe um período de tempo entre a colheita da semente e o plantio, durante o qual há necessidade de armazenamento; a outra razão, mais fundamental, é a necessidade de preservar a sua qualidade fisiológica, para minimizar a velocidade de deterioração.

O armazenamento pode ser definido como sendo um conjunto de técnicas adotadas visando o melhor acondicionamento das sementes, com o objetivo de preservar sua qualidade fisiológica ou, pelo menos, reduzir ao mínimo a taxa de deterioração (Cerqueira e Costa, 1981). As sementes devem ser adequadamente armazenadas, com o propósito de mantê-las dentro de níveis aceitáveis de germinação e vigor até a próxima semeadura.

Segundo Almeida et al. (1997), a função do armazenamento é proporcionar às sementes, um ambiente no qual as mudanças fisiológicas sejam mantidas em um nível aceitável, evitando perdas desnecessárias, tanto no aspecto qualitativo como no quantitativo. Já Delouche e Welch (1975) mencionaram que, independentemente do tamanho e/ou das características do armazém, o propósito básico é o mesmo, ou seja, prolongar a longevidade das sementes, ou analisando-se em termos práticos, manter a germinação e o vigor das sementes por determinado período.

Para Austin (1972), a perda ou a manutenção do vigor é controlada por quatro fatores principais: genético, ambiente, injúria mecânica e deterioração decorrente de armazenamento. A esse respeito, Neergaard (1977) afirmou que um dos pré-requisitos básicos para um armazenamento seguro é que o tegumento das sementes a serem armazenadas esteja intacto, ou seja, livre de danificações, dificultando, assim, a penetração de fungos e outros microrganismos. De acordo com esse autor, sementes com baixa qualidade inicial dificilmente mantêm sua viabilidade e seu vigor, ainda que as condições de armazenamento sejam favoráveis.

As condições de armazenamento são de fundamental importância para a preservação da qualidade das sementes. Muitos trabalhos têm sido conduzidos nessa área, visando caracterizar as melhores condições de preservação da qualidade fisiológica da semente, por um período mais longo (Hall, 1974).

A viabilidade das sementes, no armazenamento, pode ser influenciada pela espécie, variedade, sua qualidade inicial, umidade e temperatura das sementes, umidade relativa e temperatura de armazenamento, fungos e insetos, tipo de embalagem e duração do período de armazenamento (Roberts, 1972; Carvalho e Nakagawa, 1988; Popinigis, 1985; Minor e Paschal, 1982; Tekrony, Egli e White, 1987).

Segundo Kramer e Kozlowski (1960), o armazenamento de sementes requer considerável atenção para a manutenção dos embriões viáveis, sendo particularmente importante se este armazenamento for por um período superior a um ano. A melhor condição de armazenamento pode variar de região para região, dependendo do conteúdo de umidade e de outras características da semente. Durante o armazenamento, é importante prevenir a perda excessiva de água das sementes, respiração ou atividades bioquímicas indesejáveis.

Para Harrington (1972), a longevidade da semente é extremamente variável, em função do tipo de semente e das condições de armazenamento. Normalmente, a semente é bem conservada em ambiente que reduz a atividade metabólica com baixa temperatura e alta concentração de CO₂.

Para Roos (1980), a deterioração é consequência de alterações fisiológicas, bioquímicas e genéticas, que ocorrem durante o período de armazenamento. O autor destacou ainda que o fator crítico que influencia essas alterações são as condições de armazenamento, mais do que as características fisiológicas, bioquímicas e genéticas da semente.

Durante o armazenamento, a temperatura e a umidade relativa do ar, que envolvem as sementes, constituem dois fatores extremamente importantes para

que se mantenha o poder germinativo das mesmas. Esse último está intimamente relacionado ao teor de umidade das sementes (Justice e Bass, 1979; Viggiano e Medina, 1986; Castellane, Vieira e Carvalho, 1988).

Também para Delouche et al. (1973) e Canepelle (1994), a umidade relativa e a temperatura no local de armazenamento são os fatores mais importantes que afetam a manutenção da qualidade das sementes, durante o período de armazenamento. Os autores consideram ainda, como mais importante, a umidade relativa, em razão da sua relação com o teor de umidade das sementes. Para Greg et al. (1970), as sementes, devido à sua propriedade higroscópica, têm o seu conteúdo variando com a umidade relativa do ar, embora não com a mesma velocidade das mudanças que ocorrem na umidade relativa. Desta forma, Marcos Filho (1976) relata que sementes de grandes culturas conservam-se bem durante seis meses a um ano, em equilíbrio com a umidade relativa ao redor de 65%.

Segundo Delouche et al. (1973), a umidade relativa influencia na qualidade fisiológica de duas maneiras: a) o conteúdo de umidade da semente é função da umidade relativa do ambiente e b) a infestação por fungos e insetos é fortemente influenciada pela umidade relativa do microambiente das sementes.

Para Barton (1961), as sementes armazenadas sob condições de flutuação de umidade, podem perder a viabilidade mais rapidamente do que as sementes armazenadas em condições de umidade constante. Roberts (1973b), por sua vez, considerou que não existem evidências de que mudanças nas condições ambientais tenham algum efeito deletério na viabilidade das sementes, não existindo razão teórica para que mudanças por si só possam causar prejuízos, a não ser que ocorram alterações muito rápidas no conteúdo de umidade das sementes.

De acordo com Baskin e Baskin (1998), o teor de umidade está estreitamente relacionado à viabilidade e qualidade fisiológica das sementes,

sendo que, se houver variações no ambiente que acarretem modificações na umidade das sementes durante um certo período de tempo, os embriões poderão sofrer alterações nos seus constituintes celulares, vindo a perder sua viabilidade por completo.

Segundo Bewley e Black (1994), para a maioria das espécies, a viabilidade da semente é mantida quando seca e, por isso, é comum a secagem das sementes, para armazená-las com baixo conteúdo de umidade. Entretanto, para algumas espécies, é necessário alto conteúdo de umidade para manter a sua viabilidade. Neste sentido, Monteiro (1988), pesquisando sobre condições de armazenamento, relatou que para o feijão comum, a umidade da semente é um fator importantíssimo, pois, para temperatura de 29,5°C e grau de umidade de 9%, as sementes mantêm-se em boas condições por alguns anos, enquanto que, na umidade de 14%, não se manterão viáveis por tempo superior a três meses.

A temperatura é outro fator do ambiente que influencia na longevidade das sementes durante seu armazenamento, afetando diretamente a velocidade dos processos bioquímicos (Greg et al., 1970; Delouche et al., 1973; Justice e Bass, 1979; Popinigis, 1985; Bewley e Black, 1994). De acordo com Abraão (1971) e Baskin (1975), para a conservação das sementes, a temperatura representa um dos fatores condicionantes na manutenção da sua vitalidade, principalmente por sua influência na umidade do produto e, conseqüentemente, no seu metabolismo. Com elevação da temperatura, o processo fisiológico da respiração acelera-se, progressivamente, provocando aquecimento das sementes e consumo de reservas nutritivas.

- Segundo Popinigis (1985), a temperatura influencia, consideravelmente, dentro de certos limites, todas as atividades biológicas das semente armazenadas. Durante o armazenamento, o aumento de temperatura provoca aceleração na atividade respiratória das sementes e dos fungos que as acompanham, bem como nas atividades dos insetos.

Muitos trabalhos com temperaturas foram desenvolvidos, buscando encontrar a melhor condição para conservação das sementes a longo prazo. Autores como Crocker e Barton (1953) e Kramer e Kozłowski (1960) acham que o armazenamento a baixa temperatura prolonga a vida da maioria das sementes que possuem envoltório, sendo que a exata razão para este fenômeno é pouco conhecida; provavelmente, ela está relacionada com a redução do nível do metabolismo das sementes.

Segundo Deichmann (1967), as sementes pequenas, normalmente, requerem ambiente seco e temperaturas baixas de armazenamento, enquanto as sementes grandes suportam e comportam-se melhor quando armazenadas em ambiente de alta umidade e baixa temperatura. Neste sentido, Toole (1973) verificou que as sementes de feijão conservam-se bem a 11% de umidade em ambientes a 21°C. Entretanto, se a temperatura se elevar a 26,5°C, a umidade da mesma deverá abaixar a 8%, para que haja boa conservação da semente.

Outro fator relacionado à conservação da qualidade fisiológica da semente, sob determinadas condições de umidade relativa do ar e de temperatura, é a embalagem utilizada durante o período de armazenamento. De acordo com Ferreira (1994), uma embalagem adequada, entre outras finalidades, deve conter, proteger e conservar o produto armazenado. O autor considera ainda, como fatores preponderantes na escolha de uma embalagem, o tipo do produto a ser acondicionado, as condições do armazém e o tempo necessário para que o produto armazenado seja mantido em condições de uso.

De acordo com Toledo e Marcos Filho (1977), os materiais usados para embalagem de sementes são: tecido de juta e de algodão, papel, celofane, alumínio, polietileno, vidro e metal, que podem ser empregados isoladamente ou em composição (laminados). Portanto, baseado no tipo de material utilizado, Popinigis (1985) classificou as embalagens empregadas no acondicionamento da semente em: permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis à umidade.

A característica de barreira à umidade de uma embalagem é medida como taxa de permeabilidade ao vapor de água, que é a quantidade de água que passa através de unidade de área por unidade de tempo, à determinada temperatura e umidade relativa (Garcia, Padula e Sarantopoulos, 1989).

Segundo Condé e Garcia (1984), a maior permeabilidade da embalagem promoverá facilidades para que a umidade do meio ambiente entre em contato com as sementes e, assim, haverá maior atividade de microrganismos, insetos e do metabolismo da própria semente que, dessa forma, proporcionará um maior consumo de reservas. A associação desse conjunto de atividades contribui para uma elevada queda na qualidade das sementes.

Para Warham (1986), se as condições ambientais em que as sementes serão armazenadas forem de elevada umidade relativa, uma conservação prolongada será possível somente através da secagem da semente e manutenção do seu baixo teor de água, pelo emprego de embalagens impermeáveis.

Freire e Munford (1986) testaram uma série de embalagens para manutenção da viabilidade das sementes de arroz, durante 21 meses, sob condições ambientais de 32°C de temperatura e 80-90% de umidade relativa. Concluíram que, em embalagem impermeável (alumínio), após nove meses de armazenamento, praticamente não houve redução da viabilidade das sementes, quando estas apresentavam umidade na faixa de 7,4 a 11,5%. Entretanto, para Jesus (1995), as sementes de capim colômbio, quando armazenadas em condições ambientais sem controle de temperatura e umidade relativa, conservam-se melhor quando se utiliza embalagem de papel kraft multifoliado. Por sua vez, Macedo, Groth e Soave (1998), trabalhando com sementes de algodão, concluíram que a umidade relativa do ar, durante o armazenamento, influenciou significativamente o grau de umidade das sementes acondicionadas em embalagens de papel multifoliado e plástico trançado.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, J.T.M. Contribuição ao estudo dos efeitos de danificações mecânicas em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, SP: ESALQ, 1971. 112p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).
- ALFENAS, A.C.; DUSI, A.; ZERBINI JÚNIOR, F.M.; ROBINSON, I.P.; MICALLES, J.A.; OLIVEIRA, J.R. de; DIAS, L.A. dos S.; SCORTICHINI, M.; BONDE, M.R.; ALONSO, S.K. de; JUNGHANS, T.G.; BRUNE, W. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa, MG: UFV, 1998. 574p.
- ALMEIDA, F. de A.C.; MATOS, V.P.; CASTRO, R.J. de; DUTRA, A.S. Avaliação da qualidade e conservação de sementes a nível de produtor. In: ALMEIDA, F. de A.C.; HARA, T.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. Campina Grande, PB: UFPB/SBEA, 1997, p.132-188.
- AMARAL, A.S. Aspectos de dormência em sementes de arroz, *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre, v.45, n.405, p.3-6, nov./dez. 1992.
- AMARAL, A.S.; GONÇALO, J.F.P. Dormência em sementes de arroz. *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre, v.30, n.301, p.35-37, jul./ago. 1977.
- AMEN, R.D. A model of seed dormancy. *Botanical Review*, Lancaster, v.34, n.2, p.131, Apr./June. 1968.
- ANTI, A.B. Caracterização de linhagens de soja e feijão através de eletroforese. Piracicaba: ESALQ, 1991. 133p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- ASPINALL, D.; PALEG, L.G. The deterioration of wheat embryo and endosperm function with age. *Journal Botany*, London, v.22, p.925-935, 1971.
- AUSTIN, R.B. Effects of environmental conditions before harvesting on viability. In: ROBERTS, E.H. (ed) *Viability of seed*. New York: Syracuse University Press, 1972. p.114-149.

- BARBOSA, J.V.A. **Alguns aspectos do metabolismo dos carboidratos e proteínas durante a germinação da semente de arroz dormente e sem dormência.** Viçosa: UFV, 1978. 38p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- BARTON, L.V. **Seed preservation and longevity.** London: Leonard Hill Books, 1961. 216p.
- BASKIN, C.C. **Seed storage: biological aspects.** In: SHORT COURSE FOR SEEDSMEN, 17., 1975, Mississippi: **Proceedings...** Mississippi: Mississippi State University, 1975. p.77-80.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination.** San Diego: Academic Press, 1998. 666p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BIANCHETTI, A. **Tratamentos pré-germinativos para sementes florestais.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989. Atibaia. 1989. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p.237-246.
- BONDE, M.R.; MICALES, J.A.; PETERSON, G.L. **The use of isozyme analysis for identification of plant - pathogenic fungi.** **Plant Disease,** Washington, v.77, n.10, p.561-968, Oct. 1993.
- BOULTER, D.; THURMAN, D.A.; DERBYSHIRE, E. **A disc electrophoretic study of globulin proteins of legume seeds.** **New Phytologist,** Cambridge, v.66, n.1, p.27-36, Jan. 1976.
- BRADBEER, J.W.; **Seed dormancy and germination.** New York: Chapman and Hall, 146p. 1988.
- BRAGANTINI, C. **Conservação de Sementes.** Brasília: MEC, 1985. 18p. (Curso de Especialização por Tutoria à Distância: Sementes, Módulo 7).
- BURIN, M.E. **Regulação química da dormência endógena de *Stylosanthes humilis* H.B.K.** Viçosa, MG: UFV, 1979. 51p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).

- CANEPELLE, M.A.B. **Influência da embalagem, do ambiente e do período de armazenamento na qualidade de sementes de cebola (*Allium cepa*)**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 80p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CARRARO, D.M. **Variação e herança dos padrões eletroforéticos em orgãos e estágios de desenvolvimento em milho (*Zea mays* L.)**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 121p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas, Fundação Cargill, 1988. 424 p.
- CASTELLANE, P.D.; VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.): cultivo e produção de sementes**. Jaboticabal, SP: FCAV-UNESP, 1988. 60p.
- CASTRO, C.R.T. de; ALVARENGA, E.M. Impermeabilidade a gases como fator de dormência em sementes de gramíneas: um destaque para as forrageiras. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.6, n.1, p.28-34, abr. 1996.
- CERQUEIRA, W.P.; COSTA, A.V. Influência da umidade inicial de armazenamento sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine Max* (L.) Merrill). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.6, n.2, p.35-40, dez. 1981.
- CHAUHAN, K.P.S.; GOPINATHAN, M.C.; BABU, C.R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.13, n.3, p.629-641, 1985.
- CHEN, S.S.C.; VARNER, J.E. Hormones and seed dormancy. **Seed Science and Technology**, Norway, v.1, n.2, p.325-338, 1973.
- CHRISPEELS, M.J.; VARNER, J.E. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of α -amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers. **Plant Physiology**, Lancaster, v.42, n.3, p.398-406, Mar. 1967a.
- CHRISPEELS, M.J.; VARNER, J.E. Hormonal control of enzyme synthesis: - on the mode of action of gibberellic acid and abscisic acid in aleurone layers of barley. **Plant Physiology**, Lancaster, v.42, n.9, p.1288-1296, Sept. 1967b.
- CIACCO, C.F.; CRUZ, R. **Fabricação de amido e sua utilização**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1982. 152 p. (Série Tecnologia Industrial).

- CÍCERO, S.M. Dormência de sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. da. Primeira semana de atualização em produção de sementes. Piracicaba: Fundação Cargill, 1986. p.41-73.**
- CÔME, D.; TISSAQUE, T. Interrelated effects of inhibition, temperature on oxygen on seed germination. In: HEYDECKER, W. (ed) Seed ecology. Miyage-Ken: The Pennsylvania State University Press/University Park, 1973. p.157-168.**
- CONDÉ, A. dos R.; GARCIA, J. Armazenamento e embalagens de sementes de forrageira. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.10, n.111, p.44-49, mar. 1984.**
- COPELAND, L.O. Principles of seed science and technology. Minneapolis, Minnesota: Burgess Publishing Company, 1976. 369p. Seed dormancy, p.121-148.**
- CROCKER, W.; BARTON, L.V. Physiology of seeds. London: Chronica Botanica, 1953. 267p.**
- DAS, G.; SEN-MANDI, S. Scutellar amilase activity in naturally aged and accelerated aged wheat seeds. Annals of Botany, London, v.69, n.6, p.497-501, June 1992a.**
- DAS, G.; SEN-MANDI, S. Utilisation of free fatty acids during germination of unaged and differentially aged wheat embryos. Indian Journal of Experimental Biology, New Pali, v.30, p. 299-301, 1992b.**
- DEICHMANN, V.V. Noções sobre sementes e viveiros florestais. Curitiba: Escola de Florestas, 1967. 196p.**
- DELOUCHE, J.C.; MATTHES, R.K.; DOUGHERT, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. Seed Science and Technology, Zurich, v.1, n.3, p.671-700, 1973.**
- DELOUCHE, J.C.; NGUYEN, N.T. Methods of overcoming dormancy in rice. Association of Official Seed Analysts, Mississippi, v.54, p.41-49, 1964.**
- DELOUCHE, J.C.; WELCH, G.B. Conditioned storage of seed. In: SHORT COURSE FOR SEEDSMEN, 23., 1975, Mississippi. Proceedings... Mississippi: Mississippi State University, 1975. p.56-75.**

- DIAS, M.C.L.L.; SHIOGA, P.S. Tratamentos para superar a dormência de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.19, n.1/2, p.52-57, jun./dez. 1997.
- DIETRICH, S.M. de C. Inibidores de crescimento. In: FERRI, M.G. (coord.) *Fisiologia Vegetal*. 2. ed. rev. e atu. São Paulo: EPU, 1986. v.2, p.193-212.
- DUSSANT, J. Immunochemical approach to questions related to α and β -amilases in barley and wheat. In: ORY, R.L.; St. ANGELO, A.J. *Enzymes in food and beverage processing*. Washington: American Chemical Society, 1977. Cap. 6, p.80-99.
- DUSSANT, J.; RENARD, M. Immunochemical identification of α -amilases in developing and germination wheat seeds. *Cereal Research Communications*, Szeged, v.4, n.3, p.201-212, 1976.
- EDWARDS, M.M. Seed Dormancy and seed environment-internal oxygen relationship. In: HEYDECKER, W. (ed) *Seed ecology*. Miyage-ken: The Pennsylvania State University Press/ University Park, 1973. p.169-188.
- FERREIRA, P.C.P. *Técnicas de armazenagem*. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1994. 216 p.
- FRANCO, D.F.; PETRINI, J.A.; RODO, A.; OLIVEIRA, A.; TAVARES, W.R.F. Métodos para superar a dormência em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). *Informativo ABRATES*, Curitiba, v.7, n. 1/2, p.118, 1997. (Resumos do Congresso Brasileiro de Sementes, 10, 1997, Foz do Iguaçu).
- FREIRE, M.; MUNFORD, P.M. The efficiency of a range of containers in maintaining seed viability during storage. *Seed Science and Technology*, Norway, v.14, n.2, p.371-381, 1986.
- FREITAS, G.B. *Influência das condições de armazenamento na conservação de três lotes de sementes de milho (*Zea mays* L.)*. Viçosa, MG: UFV, 1992. 76p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- GARCIA, E.E.C.; PADULA, M.; SARANTOPOULOS, C.I. *Embalagens plásticas; propriedade de barreira*. Campinas: ITAL/ CETEA, 1989. 42p.
- GOTTLIEB, D. Electrophoretic evidence and plant systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, St. Louis, v.64, n.2, p.161-180, Mar/Apr. 1977.

- GREG, B.R.; LAW, A.G.; VIRDI, S.S.; BALIS, J.S. **Seed processing**. Nova Delhi, 1970. 396p.
- HALL, G.E. Damage during handling of shelled corn and soybeans. **Transactions of the ASAE, Michigan**, v.17, n.2, p.335-338, Mar./Apr. 1974.
- HARRINGTON, J.F. Drying, storage and packaging: present status and future needs. In: **SHORT COURSE FOR SEEDSMEN**, 14., 1971, Mississippi: **Proceedings...** Mississippi: University of Mississippi, 1971. p.133-139.
- HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. (ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. p.145-245.
- HAYASHI, M. Relation between endogenous germinations inhibitors and dormancy in rice seeds. **Japan Agricultural Research Quartely**, Tsukuba, v.21, n.3, p.153-161, Dec. 1987.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Rice Almanac**. Manila, 1993. 142 p.
- JACOBSEN, V.J.; HIGGINS, J.V. Characterization of the α -Amylases Synthesized by Aleurone Layers of Himalaya Barley in Response to Gibberellic Acid. **Plant Physiology**, Lancaster, v.70, n.6, p.1647-1653, Dec. 1982.
- JENNINGS, P.R.; JESUS JÚNIOR, J. Effect of heat on breaking seed dormancy in rice. **Crop Science**, Madison, v.4, n.5. p.530-533, Sep./Oct. 1964.
- JESUS, J.G. de. **Conservação de sementes de capim colônia (*Panicum maximum* Jaq.) efeitos do teor de água e da embalagem**. Piracicaba: ESALQ, 1995. 68p. (Tese – Doutorado em Fitotecnia).
- JONES, R.L.; Mac MILLAN, J. Gibberellins. In: WILKINS, M.B. (ed) **Advanced plant physiology**. London: Pitman Publishing, 1984. p.21-52.
- JUSTICE, O.L.; BASS, L.N. **Principles and practices of seed storage**. Castle: USDA, 1979. 289 p.
- KANZAKI, K.; KAWABATA, C.; NODA, K. Localization of α -amilase and is inhibitor in germinating wheat seed. **Seed Science Research**, Wallingford, v.3, n.4, p.287-292, Dec. 1993.

[REDACTED]

KETRING, A.L. Germination inhibitors. **Seed Science and Technology**, Norway, v.1, n.2, p.305-324, 1973.

KHAN, A.A. Cytokinins: permissive role and seed germination. **Science**, Washington, v. 171, n.3974, p.853-859, Mar. 1971.

KHAN, A.A.; GOSS, J.A.; SMITH, D. Effect of gibberellin on germination of lettuce seeds. **Science**, Washington, v.125, n.3249, p.645-646, Apr. 1957.

KNEEN, E. A comparative study of the development of amylases in germinating cereals. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 21, p. 304-314, 1944.

KOLLER, D.; MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; KLEIN, S. Seed germination. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.13, p.437-464, 1962.

KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. **Physiology of trees**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1960. 642p.

KRUGER, J.E. Changes in the amylases of hard red spring wheat during germination. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.49, n.3, p.391-398, May/June 1972a.

KRUGER, J.E. Changes in the amylases of hard red spring wheat during growth and maturation. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 49, n.3, p.379-390, May/June 1972b.

KULP, K. Carbohidrases. In: REED, G. **Enzymes in food processing**. 2. ed. New York: Academic Press, 1975. Cap. 6, p.54-122.

LECAT, S.; CORBINEAU, F.; COMÉ, D. Effects of gibberellic acid on the germination of dormant oat (*Avena sativa* L.) seeds as related to temperature, oxygen, and energy metabolism. **Seed Science and Technology**, Norway, v.20, n.3, p.421-433, 1992.

LIVESLEY, M.A.; BRAY, C.M. The effect of ageing upon α -amylase production and protein synthesis by wheat aleurone layers. **Annals of Botany**, London, v.68, n.1, p.69-73, July 1991.

LUENGO, R. de F.A. **Dormência natural e ação de giberelina e hidrazida maléica em genótipos de *Ipomea batatas* (L.) Lam.** Piracicaba: ESALQ, 1994. 97p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas).

- MACEDO, E. de C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de algodão. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.20, n.1/2, p.454-461, jan./dez. 1998.
- MARCOS FILHO, J. Fatores que afetam a conservação. *A sementes*, São Paulo, v.16, n.1, p.3-4, jun. 1976.
- MARKET, C.L. Biology of isozymes. In: MARKERT, C.L. (ed). *Isozymes*. New York: Academic Press, 1983. p.1-9.
- MARKET, C.L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes tissue, ontogenic, and species specific patterns. *Biochemistry*. New York, v.45, p.753-763, 1959.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. *The germination of seeds*. 4. ed. Toronto: Pergamon Press, 1989. 270p. Cap.6: Germination stimulations and inhibitors: their effects and their possible regulatory role, p.174-178.
- METIVIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. (Coord.) *Fisiologia vegetal*. São Paulo: EDUSP, 1979. p. 343-392.
- MEYER, L.H. *Food chemistry*. Connecticut: The Avi Publishing Company, 1976. 385p. Cap.3: Carbohydrates, p.65-113.
- MILBORROW, B.V. Inhibitors. In: WILKINS, M.B. (ed) *Advanced plant physiology*. London: Pitman Publishing, 1984. p.76-110.
- MINOR, H.C.; PASCHAL, E.H. Variation in storability of soybeans under simulated tropical condition. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.10, n.1, p.131-139, 1982.
- MONTEIRO, M.R. *Conservação de sementes de feijão-de-vagem (Phaseolus vulgaris L.): cultivo e produção de sementes*. Jaboticabal: UNESP-FCAV, 1988. 60p.
- MORI, K.; KUMAZAWA, S.; MITISUI, S. Stimulation of reducing sugars from the endosperms of rice seeds by helminthosporol. *Plant and Cell Physiology*, Tokyo, v.6, p.571-574, 1965.
- MURATA, T. AKAZAWA, T.; FUKUCHI, S. Enzimic method of starch breakdown in germinating rice seeds. I. An analytical study. *Plant Physiology*, Lancaster, v.43, n.12, p.1899-1905, Dec. 1968.

- NAIR, V.G.; PONNAIYA, B.W.X.; RAMAN, V.S.** Studies on seed dormancy in certain short duration rice varieties. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v.35, n.3, p.234-236, 1965.
- NEDEL, J.L.; ASSIS, F.N. de; CARMONA, P.S.** A planta de arroz-morfologia e fisiologia. Pelotas: UFPEL, 1996. 56p. (Módulo 1 - Curso de Especialização em Produção de Sementes de Arroz Irrigado).
- NEERGAARD, P.** **Seed Pathology**. London: MacMillan Press, 1977. v.2, 1191p.
- NOMURA, T.; KONO, Y.; AKAZAWA, T.** Enzimic mechanism of start breakdown in germinating rice seeds. II. Scutellum as the site of sucrose synthesis. **Plant Physiology**, Lancaster, v.44, n.5, p.765-769, May 1969.
- OGAWA, Y.** Effects of various factors on the increase of α -amilase activity in rice endosperm induced by gibberellin A₃. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v.7, p.509-517, 1966a.
- OGAWA, Y.** On the effects of plant extracts on the α -amilase activity in rice endosperm. **Plant Cell Physiology**, Tokyo, v.7, p. 519-525, 1966b.
- OKAMOTO, K.; AKAZAWA, T.** Enzimic mechanism of start breakdown in germinating rice seeds. IX. De novo synthesis of β -amylase. **Plant Physiology**, Lancaster, v.65, n.1, p.81-84, Jan. 1980.
- OKAMOTO, K.; AKAZAWA, T.** Purification of α and β amilases from endosperm tissues of germinating rice seeds. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v.42, n.7, p.1379-1384, July 1978.
- OLATOYE, S.T.; HALL, M.A.** Interaction of ethylene and light on dormant weed seeds. In: HEYDECKER, W. (ed). **Seed Ecology**. Norwich, Englan: Pennsylvania State University, 1972. p.233-249.
- PALEG, L.G.; SPARROW, D.H.B.; JENNINGS, A.** Physiological effects of gibberellic acid. IV. On barley grain with normal, x irradiate, e excised embryos. **Plant Physiology**, Lancaster, v.37, n.5, p.579-583, Sept. 1962.
- PETRUZZELLI, L.; TARANTO, G.** Amylase activity and loss of viability in wheat. **Annals of Botany**, London, v.66, n.4, p.375-380, Oct. 1990.

- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289p.
- RADLEY, M. The effect of the endosperm on the formation of gibberellin by barley embryos. **Planta**, Berlin, v.86, p.218-223, 1969.
- RADLEY, M. Site of production of gibberellin-like substances in germinating barley embryos. **Planta**, Berlin, v.75, p.164-171, 1967.
- RAMOS, J.D. **Caracterização fenotípica do fruto, micropropagação e germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.)**. Lavras: ESAL, 1994. 85p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- REYNOLDS, T.; THOMPSON, P.A. Effects of knetin, gibberellins and abscisic acid on the germination of lettuce (*Lactuca sativa* L.) **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.28, n.3, p.516-522, Mar. 1973.
- ROBERTS, E.H. Dormancy in rice seed. III. The influence of temperature, moisture and gaseous environment. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.13, n.37, p.75-95, 1962.
- ROBERTS, E.H. Oxidative processes and the control of seed germination. In: HEYDEKER, W. (ed). **Seed ecology**. Miyage-ken: The Pennsylvania State University Press / University Park, 1973a. p.145-155.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.3, p.499-514, 1973b.
- ROBERTS, E.H. Storage environment and the control of viability. In: ROBERTS, E.H. **Viability of seeds**. London: Syracuse University Press, 1972. p.14-58.
- ROOD, S.B.; LARSEN, M.L. Gibberellins, amylase, and the onset of heterosis in maize seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.39, n. 199, - p. 223-233, Feb. 1988.
- ROOS, E.E. Physiological, biochemical, and genetic changes in seed quality during storage. **Hort Science**, Alexandria, v.15, n.6, p.781-783, Dec. 1980.
- SANDSTEDT, R.M.; BECKORD, O.C. Photomicrographic studies of wheat starch. II. Amilolytic enzymes and the amylase inhibitor of the developing wheat kernel. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.23, p. 548-559, 1946.

- SESHU, D.V.; DADLANI, M. Mechanism of seed dormancy in rice. *Seed Science Research*, Wallingford, v.1, n.2, p.187-194, June 1991.
- SESHU, D.V.; SORRELLS, M.E. Genetic studies on seed dormancy in rice. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. *Rice genetics*. Los Banos, Philippines, 1986. p.369-384.
- SILVA FILHO, P.M.; VILLELA, F.A.; LIMA, D. Influência de métodos de superação de dormência e da temperatura na germinação de sementes de triticale (*Triticosecale* Wittmak). In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15., 1996, Gramado. *Anais...* Gramado, 1996. p. 31.
- SILVEIRA, J.R. Efeito de diferentes tratamentos para quebra de dormência sobre a germinação e o vigor de sementes de mostarda [*Brassica juncea* (L.) Czernj. et Cosson]. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 9., 1995. Florianópolis. *Resumos...* Londrina: ABRATES, 1995. v.2, n.2, p. 81.
- STEINBACH, H.S.; BENECH-ARNOLD, R.L.; SÁNCHEZ, R.A. Hormonal regulation of dormancy in developing sorghum seeds. *Plant Physiology*, Lancaster, v.113, n.1, p.149-154, Jan. 1997.
- TAKAHASHI, N. Seed germination and seedling growth. IN: TSUNODA, S.; TAKAHASHI, N. (eds) *Biology of rice*. Tokyo: Japan, Science Society, 1984. p. 71-78.
- TANAKA, Y.; AKAZAWA, T. α -amilase isoenzymes in gibberellic acid-treated barley half-seeds. *Plant Physiology*, Lancaster, v.46, n.5, p.586-591, Nov. 1970.
- TANAKA, Y.; ITO, T.; AKAZAWA, T. Enzymic mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds. III. Amylases isozymes. *Plant Physiology*, Lancaster, v. 46, n.5, p. 650-654, Nov. 1970.
- TAYLORSON, R.B.; HENDRICKS, S.B. Dormancy in seeds. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.28, p.331-354, 1977.
- TeKRONY, D.M.; EGLI, D.B; WHITE, G.M. Seed production and technology. In: WILCOX, J.R. (ed). *Soybeans: improvement. production, and uses 1*. Madison: American Society of Agronomy, 1987. p.295-353.
- TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. *Manual das sementes - tecnologia de produção*. Piracicaba: Agrônômica Ceres, 1977. 244 p.

- TOOLE, V.K. Effects of light, temperature and their interactions on the germination on seeds. *Seed Science and Technology*, Norway, v.1, n.2, p.339-396, 1973.
- van BECKUN, J.M.M.; LIBBENGA, K.R.; WANG, M. Abscisic acid and gibberellic acid-regulated responses of embryos and aleurone layers isolated from dormant and nondormant barley grains. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.89, n.3, p.483-489, Nov. 1993.
- van BECKUM, J.M.M.; WANG, M. Effect of short chain fatty acids on physiology of barley grains cv. Triumph with a different level of dormancy. *Plant Science*, Amsterdam, v.102, p.153-160, 1994.
- VARNER, J.E.; CHANDRA, G.R.; CHRISPEELS, M.J. Gibberellic acid-controlled synthesis of α -amylase in barley endosperm. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, Philadelphia, v. 66, p.55-68, 1965.
- VERNETTI, F.J. (Coord.) Soja: genética e melhoramento. Campinas: Fundação Cargill, 1983. v.2, p.627-676.
- VIEIRA, A.R. Efeitos de compostos fenólicos na dormência de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e eficiência de tratamentos pré-germinativos. Lavras: ESAL, 1991. 58p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- VIEIRA, A.R.; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, V.D. de; FRAGA, A.C. Efeitos de tratamentos pré-germinativos na superação da dormência de sementes de arroz e na atividade enzimática da peroxidase. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.29, n.4, p.535-542, abr.1994.
- VIEIRA, N.R.A. Development and release of seed dormancy in rice (*oryza sativa* L.) as related to stage of maturity. Mississippi: Mississippi State University, 1975. 33 p. (Dissertation - Master Science in Agronomy).
- VIGGIANO, J.; MEDINA, R.S.L. Conservação de sementes de feijão-de-vagem com três teores de umidade, acondicionadas em dois tipos de embalagens e mantidas sob duas condições de armazenamento, durante sessenta meses. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5., 1987, Gramado, RS. Resumos... Gramado: ABRATES, 1986. p. 28.
- WALKER-SIMMONS, M.; SESSING, J. Temperature effects on embryonic abscisic acid levels during development of wheat grain dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, New York, v.9, p.51-56, 1990.

WANG, M.; BAKHUIZEN, R; HEIMOVAARA-DIJKSTRA, S.; ZEIJL, M.J.; DE VRIES, M.A.; de VRIES, M.A.; van BECKUM, J.M.; SINJORGO, K.M.C. The role of ABA and GA in barley grain dormancy: A comparative study between embryo dormancy and aleurone dormancy. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v.41, p.577-584, 1994.

WANG, M.; HEIMOVAARA-DIJKSTRA, S.; van DUIJN, B. Modulation of germination of embryos isolated from dormant and nondormant barley grains by manipulation of endogenous abscisic acid levels. **Planta**, Berlin, v.195, n.4, p.586-592, Feb. 1995.

WANG, M.; van der MEULEN, R.M.; VISSER, K.; van SCHAIK, H.P.; van DUIJN, B. de BOER, A. H. Effects fo dormancy-breaking chemicals on ABA in barley grain embryos. **Seed Science Research**, Welliongford, v.8, p.129-137, 1998.

WARHAM, E. Comparison of packaging materials for seed with particular reference to humid tropcial environments. **Seed Science and Technology**, Norway, v.14, n.1, p.191-211, 1986.

WESTERMEIER, R. (ed). **Eletrophoresis in practice: a guide to theory and practice**. New York: VCH, 1993. 277p.

WHITAKER, J.R. **Principles of enzimology for the food science**. New York: Marcel Dekker, 1972. 632 p. (Food Science: A series of monographs, v.2).

CAPÍTULO II

APLICAÇÃO DO ÁCIDO GIBERÉLICO (GA₃) NA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA E NA ATIVIDADE DA α -AMILASE EM SEMENTES DE ARROZ.

RESUMO

VIEIRA, Antônio Rodrigues. Aplicação do ácido giberélico (GA₃) na superação da dormência e na atividade da α -amilase em sementes de arroz. Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

Para avaliar a eficiência do uso do ácido giberélico (GA₃) na superação da dormência de sementes de arroz, bem como a atividade da enzima α -amilase como indicador do grau dessa dormência, foram utilizadas sementes da cultivar irrigada Urucuia, que apresentam alta intensidade de dormência pós-colheita. Para tanto, as sementes foram submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias e à submersão em 30 ml de soluções de GA₃ nas concentrações de 0, 10, 30 e 60 mg/litro de H₂O, nos tempos de 2, 24 e 36 horas. Após os tratamentos, foi determinada a atividade da α -amilase através da eletroforese em gel de poliacrilamida e da espectrofotometria. Simultaneamente, foi realizado o teste de germinação. Pelos resultados, observa-se que houve ganho na germinação e na atividade da α -amilase em maiores concentrações e tempos de embebição das sementes em GA₃. A embebição das sementes em 60 mg GA₃/litro H₂O por 36 horas apresenta-se eficiente como um tratamento rápido na superação da dormência de sementes de arroz, sendo equivalente a estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias. A atividade da enzima α -amilase apresentou-se como um eficiente marcador do grau de dormência das sementes.

ABSTRACT

VIEIRA. Antônio Rodrigues. Application of giberelic acids (GA₃) in rice seeds dormancy and the α -amylase activity. Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Thesis - Doctorate in Plant Science)

To evaluate the efficiency of gibberellic acid (GA₃) in breaking rice seeds dormancy and the α -amylase enzyme activity as an indicator of the dormancy level, seed from the irrigated cultivar Urucuia were used, which show high intensity of pos-harvest dormancy. The seeds were submitted to a pre-drying process in a forced air circulation chamber under 40°C during 7 days and submersed in 30 mL of GA₃ solution under 0, 10, 30 and 60 mg/L H₂O concentrations, during 2, 24 and 36 hours. After the treatments, the α -amylase activity was determined by using the polyacrilamide electrophoresis and espectrophotometry. At the same time, the germination test was made. The results indicated a gain in germination and in α -amylase activity in higher concentrations and soaking time of seeds in GA₃. These observations lead to the conclusion that the soaking of seeds in 60 mg GA₃/L during 36 hours can be used as a quick and efficient treatment in breaking rice seeds dormancy, being equivalent to the forced air circulation chamber at 40°C during 7 days. The α -amylase enzyme activity proved to be as an efficient marker of the seeds dormancy level.

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento da qualidade das sementes, logo após a colheita, é um fator importante a ser considerado em qualquer programa de produção de sementes. Essa informação, de forma rápida e segura, torna-se indispensável para qualquer decisão a ser tomada em relação ao destino das sementes.

Dentro do processo de produção de sementes de arroz, uma característica que tem dificultado em muito a execução de testes para a avaliação rápida da qualidade das sementes, sem dúvida, é a alta intensidade de dormência durante um longo período de tempo, apresentada pela maioria das sementes das cultivares irrigadas.

Os métodos utilizados para superar a dormência das sementes de arroz, recomendados pelas Regras para Análise de Sementes, Brasil (1992), não têm apresentado a precisão, rapidez e segurança requerida pela indústria sementeira. Por outro lado, os testes de pré-secagem para superar a dormência, relatados por Vieira et al. (1994), em seu estudo realizado com sementes de arroz, apesar de eficientes, não têm se mostrado tão eficientes quando utilizados para cultivares irrigadas que apresentam uma maior intensidade de dormência.

As estruturas de cobertura (casca e pericarpo) das sementes de arroz, agem como barreira física e filtro químico à entrada de oxigênio (Roberts, 1962). Estas possíveis causas de dormência afetam direta ou indiretamente o metabolismo dos carboidratos, das proteínas e de outras reservas das sementes durante o processo germinativo (Barbosa, 1978).

Sabe-se porém, que as giberelinas têm papel chave na germinação de sementes, estando envolvidas tanto na superação da dormência, como no controle da hidrólise de reservas. Portanto, a presença do ácido giberélico (GA_3) nas sementes em níveis adequados, estimula a síntese, ativação e secreção de

enzimas hidrolíticas, principalmetne a α -amilase, liberando açúcares redutores e aminoácidos, dos quais depende o embrião em crescimento.

Diante disso, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a eficiência do uso do ácido giberélico (GA_3), na superação rápida da dormência de sementes de arroz irrigado bem como avaliar, por meio do uso da espectrofotometria e de técnicas eletroforéticas, a atividade da enzima α -amilase como indicador da superação dessa dormência.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Bioquímica e de Biotecnologia de Sementes, dos Departamentos de Química e Agricultura respectivamente, da Universidade Federal de Lavras -UFLA em 1998, utilizando sementes básicas de arroz, cultivar Urucuia, produzidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG - Lambari - MG.

2.1 Preparo das sementes

Após colhidas e secadas em terreiro de cimento, para um nível de aproximadamente 13% de umidade, as sementes foram beneficiadas e uma amostra foi coletada, homogeneizada, e submetida a avaliação do estado de dormência através do teste de germinação, conforme descrito no item 2.2.1, antes e após o tratamento de quebra de dormência das sementes em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias (Vieira et al., 1994).

Detectada a dormência das sementes, novas amostras foram submetidas a tratamentos pré-germinativos com GA_3 em diferentes concentrações. Para tanto, as sementes foram submersas em 30 mL de soluções de GA_3 nas concentrações de 0, 10, 30 e 60 mg/litro de água destilada (correspondendo

aproximadamente a 0, 25, 75 e 150 μM de GA_3) a uma temperatura de 30°C , por períodos de 2, 24 e 36 horas. As dosagens e os tempos de submersão utilizados neste ensaio foram baseados em estudos desenvolvidos por Barbosa (1978), com modificação na metodologia.

Como tratamentos adicionais foram utilizadas sementes não submetidas a tratamentos para superação da dormência (testemunha) e sementes submetidas à estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias.

2.2 Avaliações

Para avaliar a eficiência dos tratamentos de superação da dormência, as sementes foram submetidas ao teste de germinação e à determinações da atividade enzimática da α -amilase (E.C.3.2.1.1) e da quantidade de proteínas.

2.2.1 Teste de germinação

Foi realizado utilizando 4 repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em papel toalha no sistema de rolo, umedecido em água na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram dispostos em germinador previamente regulado a uma temperatura de 30°C . As avaliações foram feitas aos 7 e 14 dias após a semeadura, seguindo as prescrições contidas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), computando-se apenas as porcentagens de plântulas normais.

No final do teste, as sementes que permaneceram dormentes tiveram sua viabilidade avaliada pelo teste de tetrazólio para comprovação de sua dormência. Para tanto, as sementes foram seccionadas longitudinalmente através do embrião e submersas em solução de 2, 3, 5 trifênil tetrazólio a 0,1%, por um período de 4 horas à temperatura de 30°C , na ausência de luz para coloração. Após esse período, as sementes foram lavadas em água corrente e tiveram a sua viabilidade avaliada, seguindo critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes

(Brasil, 1992), sendo os resultados expressos em porcentagem de sementes dormentes.

2.2.2 Determinação da atividade da α -amilase e de proteínas

Realizadas através da eletroforese e da espectrofotometria. Para tanto, foram utilizadas 100 sementes de cada tratamento, colocadas para germinar no sistema de rolo de papel em germinador à temperatura de 30°C, até que um dos tratamentos apresentou 50% ou mais de protrusão da radícula, o que ocorreu aproximadamente em 60 horas. Em seguida, foram retiradas manualmente, a pálea e a lema (casca) das sementes, e os cariópses, contendo ou não a radícula em início de emissão, foram triturados a frio em moinho refrigerado e armazenados em freezer a - 84°C.

Para determinar a atividade enzimática da α -amilase por meio da eletroforese, foram utilizadas 100 mg de sementes trituradas para cada amostra, às quais foram adicionados 200 μ L do tampão de extração (Tris - HCl 0,2M; 1% β mercapto-etanol; 0,4% PVP; 0,4% PEG + 1 mM EDTA; pH 8,0). Os tubos Eppendorf contendo os homogeneizados foram, em seguida, mantidos em gelo por 24 horas. Após esse período, os extratos provenientes dos diferentes tratamentos foram ressuspensos e centrifugados a 16.000 x/g por 60 minutos a 4°C e os sobrenadantes foram recolhidos.

Para determinar a atividade da α -amilase e a quantidade de proteínas solúveis através da espectrofotometria, precedeu-se a extração conforme metodologia acima descrita, alterando o volume do tampão de extração para 1 mL.

2.2.2.1 Eletroforese

Foram aplicados 40 μ L de cada sobrenadante obtido, em géis de poliacrilamida a 4,5% (gel concentrador) e 7,5% (gel separador contendo 5% de

amido solúvel). O sistema gel/eletrodo utilizado foi Tris-glicina pH 8,9. As corridas eletroforéticas foram efetuadas a 12 mA no gel concentrador e 24mA no gel separador.

Após a eletroforese, os géis sob condições de ambiente, foram revelados para a atividade enzimática da α -amilase. Para tal, foram incubados em 100 mL de solução tampão acetato de sódio 50 mM + 200 mg de CaCl_2 (10%) a 50°C por 60 minutos. Em seguida, foram lavados em água destilada e colocados em 100 mL de uma solução de I_2 10 mM contendo KI 14mM, até o aparecimento de bandas acromáticas (claras) com fundo azulado (Alfenas et al., 1998).

2.2.2.2 Espectrofotometria

Em uma parte dos sobrenadantes obtidos para esta análise, utilizou-se amido na concentração de 0,5%. A determinação dos grupos redutores foi realizada conforme Noelting e Bernfeld (1948). Em cada determinação, a mistura de reação foi incubada por 5 diferentes períodos de tempo. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo que os tubos experimentais. A atividade da α -amilase calculada foi expressa em m mols de substrato hidrolisado por minuto (mileunidade - mU).

A determinação da quantidade de proteínas solúveis foi realizada na outra parte dos sobrenadantes, seguindo a metodologia descrita por Bradford (1976), utilizando albumina bovina como padrão. Os resultados foram expressos em miligramas de proteínas solúveis por 100 mg de pó de sementes (mg/100mg).

Posteriormente, foi calculada a atividade específica, dividindo-se a atividade da α -amilase pela quantidade de proteínas solúveis, sendo os resultados expressos em mileunidade por miligrama (mU/mg).

2.3 Procedimentos estatísticos

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial 4 x 3 (quatro concentrações e três tempos de submersão), mais dois tratamentos adicionais (sem e com tratamento pré-germinativo em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias).

Para comparação dos resultados, foram utilizadas análises de variância, fazendo-se a transformação dos valores expressos em porcentagem para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$. Para as variáveis que apresentaram efeito significativo pelo teste F, realizaram-se análises de regressão. Os tratamentos adicionais tiveram suas médias contrastadas com o melhor tratamento do fatorial.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da eficiência de tratamentos pré-germinativos

O resumo da análise de variância dos dados referentes às variáveis teste de germinação e sementes dormentes revelam significância para todos fatores (Tabela 1A).

Nas Figuras 1 e 2 estão apresentadas as equações de regressão e os valores médios ajustados de germinação e de sementes dormentes de arroz, obtidos nos tratamentos com GA₃. Na Tabela 1 encontram-se os contrastes entre o melhor tratamento do fatorial (60 mg GA₃/litro H₂O por 36 horas) e os tratamentos adicionais, estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias e sementes secas (testemunha).

Pela equação da Figura 1 ($y = 49,14 + 0,669003 C - 0,008738 C^2 + 0,184167 T + 0,002716 CT$), observa-se que houve um efeito quadrático para concentração de GA₃, efeito linear para tempo de embebição e um efeito interativo dos dois fatores. Pode ser observado nesta figura que, de uma maneira

geral, à medida que se aumentou a concentração de GA_3 e o tempo de embebição das sementes, maiores foram os ganhos em germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por Ramos (1994) que, trabalhando com GA_3 nas dosagens de 0, 25, 50 e 100 mg/litro de água e tempos de 0, 6, 12 e 24 h de imersão, observou que à medida que se aumentou a dosagem de GA_3 , maior foi a porcentagem de sementes de tangerina germinadas a 0 h e 6 h de imersão. Utilizando-se a equação desta figura, pode-se encontrar a germinação máxima no valor de 90% (dado destransformado), o que ocorreu na concentração de 57,80 mg GA_3 /litro de H_2O no maior tempo de embebição (36 horas). Tal observação reforça relatos de Paleg, Sparrow e Jennings (1962), Chrispeels e Varner (1967), Tanaka, Ito e Akazawa (1970) e Steinbach, Benech-Arnold e Sánches (1997), os quais enfatizaram que a presença de ácido giberélico (GA_3) nas sementes de cereais, em níveis endógenos adequados, parece ser um requisito essencial para que haja germinação, sendo este hormônio continuamente requerido durante todo o processo germinativo. Em relação à Figura 2, pode ser verificado que a porcentagem de sementes dormentes foi reduzida com o aumento da concentração de GA_3 e tempo de embebição das sementes. Comparando as duas figuras, pode-se observar ainda, uma relação inversa entre as porcentagens de germinação e de sementes dormentes. Os menores valores encontrados para sementes dormentes foram aqueles obtidos nos tratamentos em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias e 60 mg GA_3 /litro H_2O por 36 horas, os quais propiciaram uma maior germinação das sementes. Esses resultados estão de acordo com Khan (1971), Metivier (1979) e Mayer e Poljakoff-Mayber (1989), os quais demonstraram que as giberelinas, mais do que qualquer outro hormônio vegetal, têm papel chave na germinação de sementes, estando envolvidas, tanto na quebra de dormência, como no controle da hidrólise de reservas, da qual depende o embrião em crescimento.

$$TPG_t = 49,14 + 0,669003**C - 0,008738**C^2 + 0,184167**T + 0,002716**CT$$

$$R^2 = 0,85$$

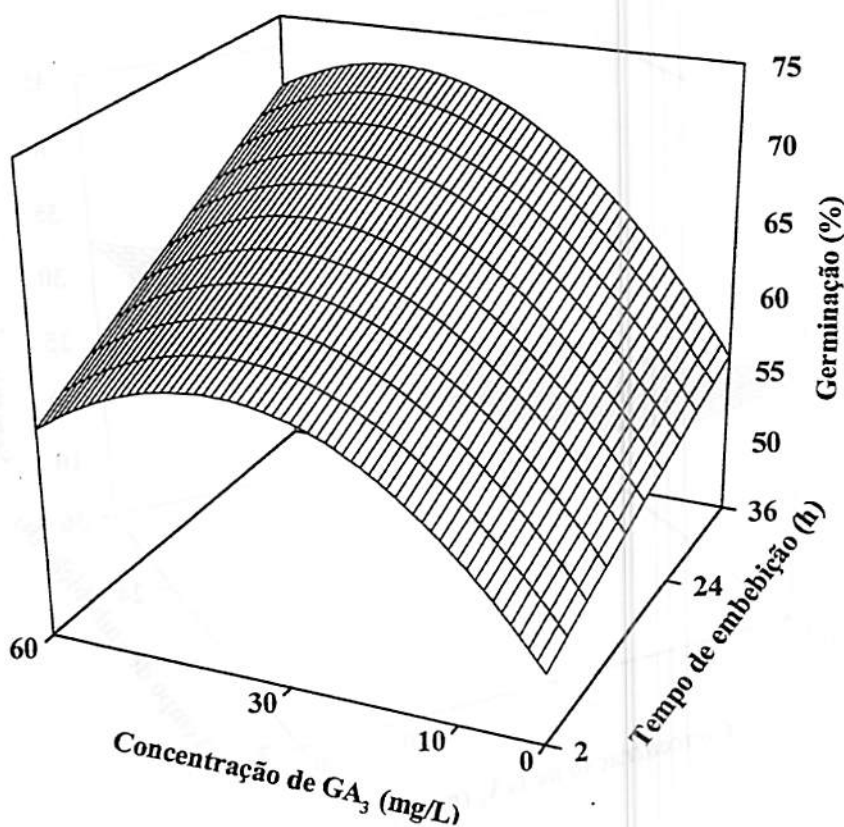


Figura 1- Estimativa da porcentagem de germinação de sementes de arroz, após tratamentos pré-germinativos com diferentes concentrações de GA₃ (mg/L) em diferentes tempos de embebição (h). UFLA, Lavras-MG, 2000.

$$SD_t = 39,98 - 0,714672**C + 0,007841**C^2 - 0,322957**T$$

$$R^2 = 0,87$$

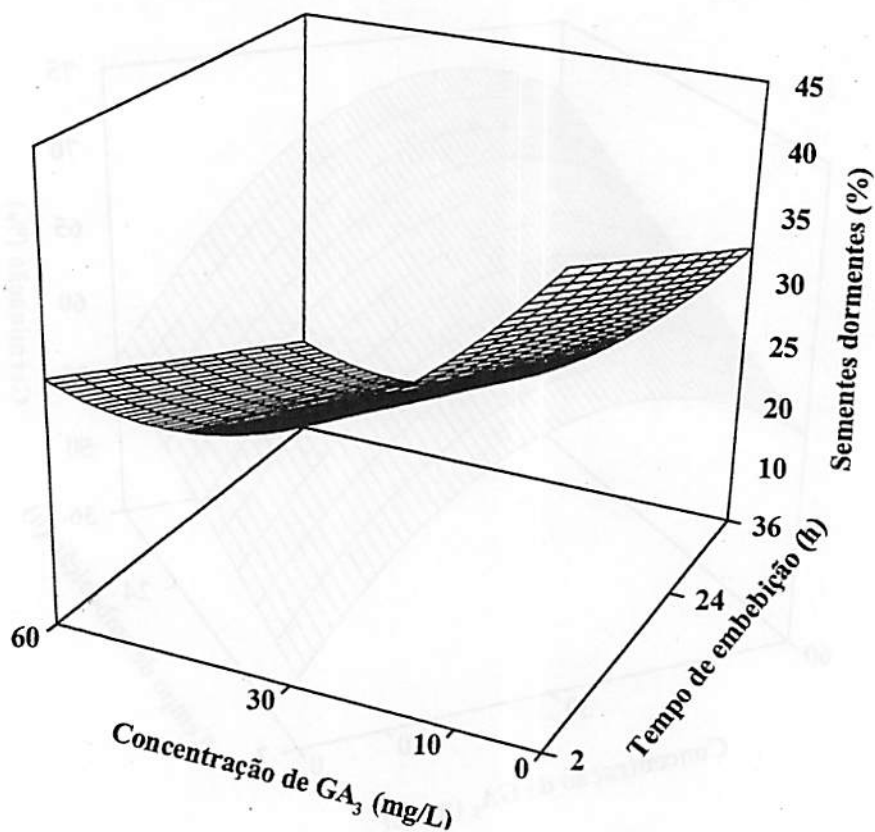


Figura 2- Estimativa da porcentagem de sementes dormentes de arroz, após tratamentos pré-germinativos com diferentes concentrações de GA₃ (mg/L) em diferentes tempos de embebição (h). UFLA, Lavras-MG, 2000.

Comparando-se contrastes através do teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 1), observa-se que o tratamento com estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias, foi o melhor, não diferindo, porém, do tratamento onde aplicou-se 60 mg GA₃/litro H₂O por 36 horas. Situação semelhante foi encontrada por Barbosa (1978) e Seshu e Dadlani (1991), que observaram que o umedecimento do substrato de germinação com solução de GA₃ também mostrou-se eficiente, para superar a dormência de sementes de arroz. Isto vem reforçar relatos de Lecat, Corbineau e Comê (1992), os quais mencionaram que o GA₃ tem a propriedade de superar a dormência de sementes de cereais, propiciando ganhos significativos na germinação.

Mediante esses resultados, pode-se constatar que o GA₃ utilizado na concentração de 60 mg/litro H₂O, no tempo de 36 horas de embebição das sementes, mostra-se como uma alternativa ao método de estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias, que foi o melhor tratamento encontrado por Vieira et al. (1994), em seus trabalhos com sementes dormentes de arroz. A utilização do GA₃, entretanto, apresenta ainda como vantagem, maior rapidez, segurança e facilidade de aplicação em laboratório.

Tabela 1 - Contrastes comparando os valores médios de germinação (%) do melhor tratamento do fatorial (60 mg GA₃/litro H₂O por 36 horas - GA) e os tratamentos adicionais, estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias - EF e sementes secas (testemunha - TE). UFLA - Lavras-MG, 2000.

$$\hat{y} = EF - GA = 1,3125 - 1,2498 = 0,0627^{ns}$$

$$\hat{y} = EF - TE = 1,3125 - 0,7303 = 0,5822^*$$

$$\hat{y} = GA - TE = 1,2498 - 0,7303 = 0,5195^*$$

ns → não significativo a 5% pelo teste de Tukey

* → significativo a 5% pelo teste de Tukey

3.2 Atividade da α -amilase

Em relação à análise eletroforética de atividade enzimática da α -amilase, representada pela Figura 3, pode ser observado, em geral, que o aumento da concentração de GA_3 e do tempo de embebição das sementes, propiciou um correspondente aumento na atividade desta enzima, demonstrado pelo acréscimo gradativo na degradação do amido contido no gel.

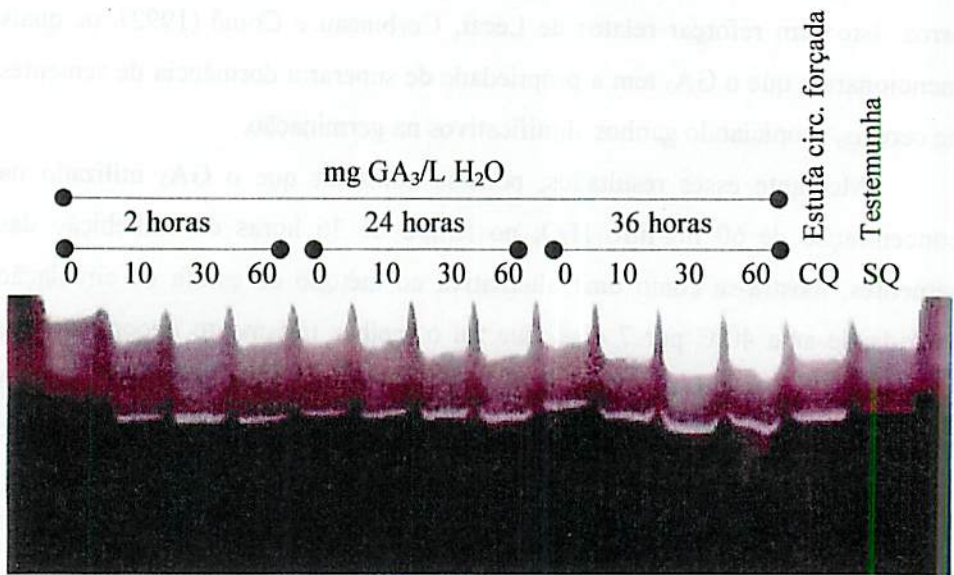


Figura 3 - Perfis eletroforéticos de atividade enzimática da α -amilase, em sementes de arroz recém-germinadas após tratamentos pré-germinativos com GA_3 . UFLA, Lavras-MG, 2.000.

Embora a α -amilase apresente atividade enzimática para todos os tratamentos pré-germinativos estudados, observa-se que a testemunha e os tratamentos com menor tempo de embebição e concentração de GA_3 propiciaram menores atividades, com conseqüente redução da degradação do amido do gel. Estes tratamentos não foram eficientes em promover um

balanceamento entre hormônios reguladores de crescimento, os quais têm papel fundamental na resposta germinativa das sementes (Amen, 1968; Barbosa, 1978).

As maiores atividades enzimáticas ocorreram quando as concentrações de GA₃ e os tempos de embebição das sementes foram maiores. Tal comportamento foi similar ao tratamento com estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias, mostrando também, uma concordância com os resultados encontrados no teste de germinação. Estes resultados reforçam os encontrados por Das e Sem-Mandi (1992), em sementes de trigo, onde esses autores observaram um aumento considerável na atividade da α -amilase durante a embebição; e que a iniciação da germinação está associada ao incremento da atividade da α -amilase. Vale ressaltar, no entanto, que esta atividade não foi encontrada logo no início da embebição.

Os resultados encontrados neste estudo foram confirmados através da espectrofotometria pela quantificação da atividade enzimática e da atividade específica da α -amilase, apresentadas na Tabela 2. Embora o tratamento das sementes em estufa de circulação forçada de ar, a 40°C por 7 dias, tenha apresentado maiores valores de atividade pela espectrofotometria, esta superioridade não foi constatada da mesma forma pela atividade da α -amilase no gel de eletroforese nem nas avaliações fisiológicas. Provavelmente, a partir de um certo nível de atividade, não ocorre aumento correspondente na degradação do amido. De qualquer forma, esses resultados sugerem ser a atividade da enzima α -amilase, um importante indicador da superação da dormência em sementes de arroz.

Tabela 2 - Valores médios de atividades da α -amilase (mU), quantidade de proteína solúvel (mg/100mg) e atividade específica (mU/mg) em extratos de sementes de arroz, submetidas a tratamentos para superação da dormência. UFLA-Lavras-MG, 2000.

Tratamentos	Atividade α -amilase	Quantidade proteína	Atividade específica
Sementes secas (testemunha)	77,75	0,52	148,38
0 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 2h	103,66	0,47	221,50
0 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 24h	123,07	0,49	252,71
0 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 36h	181,41	0,50	360,65
10 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 2h	161,97	0,52	314,51
10 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 24h	184,65	0,51	364,91
10 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 36h	259,15	0,53	485,30
30 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 2h	239,72	0,56	431,92
30 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 24h	323,94	0,52	627,79
30 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 36h	366,05	0,58	628,80
60 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 2h	161,97	0,58	278,78
60 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 24h	333,66	0,54	615,60
60 mg GA ₃ /L H ₂ O/ 36h	421,12	0,59	708,96
Estufa circulação 40°C/7 dias	647,88	0,53	1.227,04

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que:

- 1- A imersão das sementes em 60 mg GA₃/litro H₂O por 36 horas apresenta-se como um método rápido e eficiente na superação da dormência de sementes de arroz;
- 2- A atividade da enzima α -amilase apresenta-se como um eficiente indicador do grau de dormência das sementes de arroz.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; DUSI, A.; ZERBINI JÚNIOR, F.M.; ROBINSON, I.P.; MICALES, J.A.; OLIVEIRA, J.R. de; DIAS, L.A. dos S.; SCORTICHINI, M.; BONDE, M.R.; ALONSO, S.K. de; JUNGHANS, T.G.; BRUNE, W. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos.** Viçosa, MG: UFV, 1998. 574p.
- AMEN, R.D. A model of seed dormancy. *Botanical Review*, Lancaster, v.34, n.2, p.131, Apr./June 1968.
- BARBOSA, J.V.A. **Alguns aspectos do metabolismos dos carboidratos e proteínas durante a germinação da semente de arroz dormente e sem dormência.** Viçosa, MG: UFV, 1978. 38p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. *Analytical Biochemistry*, New York, v.72, p.248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes.** Brasília, 1992. 365p.
- CHRISPEELS, M.J.; VARNER, J.E. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of α -amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers. *Plant Physiology*, Lancaster, v.42, n.3. p.398-406, Mar. 1967.
- DAS, G.; SEN-MANDI, S. Scutellar amilase activity in naturally aged and accelerated aged wheat seeds. *Annals of Botany*, London, v.69, n.6, p.497-501, June 1992.
- KHAN, A.A. Cytokinins: permissive role and seed germination. *Science*, Washington, v171, n.3974, p.853-859, Mar. 1971.
- LÊCAT, S.; CORBINEAU, F.; COMÊ, D. Effects of gibberellic acid on the germination of dormant oat (*Avena sativa* L.) seeds as related to temperature, oxigen, and energy metabolism. *Seed Science and Technology*, Norway, v.20, n.3, p.421-433, 1992.

- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYER, A. The germination of seeds. 4. ed. Toronto: Pergamon Press, 1989. 270p. Cap. 6: Germination stimulators and inhibitors: their effects and their possible regulatory role, p.174-178.
- METTIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. (Coord.) *Fisiologia vegetal*. São Paulo: EDUSP, 1979. p. 343-392.
- NOELTING, G.; BERNFELD, P. Sur les enzymes amylolytiques, III- La β amylase: dosage d'activité et contrôle de l'absence d' α -amylase. *Helvetica Chimica Acta*, Basel, v.31, p.286-290, 1948.
- PATEG, L.G.; SPARROW, D.H.B.; JENINGS, A. Physiological effects of gibberellic acid IV. On barley grain with normal, x irradiate, e excised embryos. *Plant Physiology*, Lancaster, v.37, n.5, p.579-583, Sept. 1962.
- RAMOS, J.D. Caracterização fenotípica do fruto, micropropagação e germinação de sementes do porta-enxerto tangierina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.). Lavras: ESAL, 1994. 85p. (Tese - Doutorado em Fiotecnia).
- ROBERTS, E.H. Dormancy in rice seed. III. The influence of temperature, moisture and gaseous environment. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.13, n.37, p.75-95, 1962.
- SESHU, D.V.; DADLANI, M. Mechanism of seed dormancy in rice. *Seed Science Research*, Wallingford, v.1, n.2, p.187-194, June 1991.
- STEINBACH, H.S.; BENECH-ARNOLD, R.L.; SANCHES, R.A. Hormonal regulation of dormancy in developing sorghum seeds. *Plant Physiology*, Lancaster, v.113, n.1, p.149-154, Jan. 1997.
- TANAKA, Y.; ITO, T.; AKAZAWA, T. Enzymic mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds. III. Amylases isozymes. *Plant Physiology*, Lancaster, v. 46, n.5, p.650-654, Nov. 1970.
- VEIRA, A.R.; VEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, V.D. de; FRAGA, A.C. Efeitos de tratamentos pré-germinativos na superação da dormência de sementes de arroz e na atividade enzimática da peroxidase. *Resquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.29, n.4, p.535-542, abr.1994.

CAPÍTULO III

ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM SEMENTES DORMENTES DE ARROZ SUBMETIDAS A DIFERENTES AMBIENTES DE ARMAZENAMENTO.

RESUMO

VIEIRA, Antônio Rodrigues. Alterações enzimáticas em sementes de arroz, durante o período de dormência, sob diferentes ambientes de armazenamento. Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia)

Este trabalho teve como objetivo, avaliar as alterações que ocorrem durante o período de dormência das sementes de arroz irrigado, armazenadas sob diferentes condições de temperatura e umidade, através de testes fisiológicos e da atividade da enzima α -amilase. Para tanto, foram utilizadas sementes da cultivar Urucuia, que apresentam alta intensidade de dormência pós-colheita, as quais foram acondicionadas em sacos de papel multifoliado e armazenadas por um período de 12 meses, em ambiente aberto (armazém convencional) e controlado (câmara fria e seca à temperatura de 10°C e umidade relativa do ar de 50% em Lavras e de 15°C e 55% UR em Patos de Minas). Trimestralmente, foi determinada a atividade da α -amilase através da eletroforese em gel de poliacrilamida e da espectrofotometria. Simultaneamente, foi realizado o teste de germinação. Os resultados indicam que as condições de armazenamento influenciam na superação da dormência das sementes. Em ambiente de câmara fria e seca, a superação da dormência foi mais lenta que em ambiente de armazém convencional. As mudanças nos perfis de atividade da α -amilase apresentaram relação direta com as mudanças nas porcentagens de germinação, sugerindo ser esta enzima um promissor indicador da intensidade de dormência das sementes de arroz.

ABSTRACT

VIEIRA. Antônio Rodrigues. Enzymatics alterations in rice seeds, during the dormancy period, under different storage environments. Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Thesis - Doctorate in Plant Science).

This objective of this research was to evaluate the changes that occurred during the dormancy in irrigated rice seeds, stored under different conditions of temperature and moisture, using physiological tests and, the α -amylase enzyme activity as an indicator of the intensity of dormancy of seeds. To do that, seeds of the Urucuia cultivar were used, which present high intensity of pos-harvest dormancy, and they were packed in multilayer paper bags and stored during a 12 month period, in conventional warehouse and cold chamber environments, in Lavras and Patos de Minas. Every 3 month the α -amylase activity was determinated by using the polyacrilamide gel electrophoresis and spectrophotometry. At the same time, the germination test was performed. The results indicated that the storage conditions affect the dormancy break in seeds. In a cold chamber environment the dormancy break was slower than in convetional warehouse environment. The changes in the α -amylase activity profiles suggested that this enzyme is a promissing indicator of the rice seeds dormancy level.

1 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da agricultura, acompanhado de uma demanda cada vez mais crescente de tecnologia avançada, o aspecto qualidade cresce em importância, não só pela elevação do grau tecnológico, como também pela maior competitividade entre as instituições produtoras de sementes.

Dentro dos programas de controle de qualidade interno das empresas produtoras de sementes, o monitoramento da qualidade fisiológica de sementes dormentes de arroz é, sem dúvida, um ponto fundamental a ser considerado, principalmente quando se quer encontrar indicadores que possam determinar a velocidade com que essa dormência vem sendo superada.

Durante o estágio de dormência das sementes de arroz irrigado, período em que elas permanecem armazenadas e que vai basicamente da colheita até à época de sua utilização para plantio, pouco se sabe a respeito do comportamento das enzimas, no processo metabólico dessas sementes.

Recentemente, técnicas utilizadas na detecção da atividade enzimática, no período anterior e posterior à germinação, têm sido utilizadas para determinar as alterações bioquímicas que ocorrem nas sementes. Neste sentido, a produção e quantidade de certos metabólitos podem oferecer uma indicação mais realista da condição de dormência das sementes.

Segundo Taylorson e Hendricks (1977), a principal questão em dormência é o grau de envolvimento do controle da transcrição e tradução dos ácidos nucléicos, na produção de enzimas a nível de ribossomos. Para Bragantini (1985), embora já existam diversas técnicas utilizando atividade enzimática como método de avaliação da viabilidade das sementes, somente algumas das muitas enzimas envolvidas no processo têm sido investigadas.

Diante disso, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar as alterações que ocorrem durante o estágio de dormência das sementes de arroz, armazenadas sob

diferentes condições de temperatura e umidade relativa, por meio de testes fisiológicos, espectrofotometria e perfis eletroforéticos de atividade da enzima α -amilase.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Bioquímica e de Biotecnologia de Sementes, dos Departamentos de Química e Agricultura respectivamente, da Universidade Federal de Lavras - UFLA, de 1998 a 1999, utilizando sementes básicas de arroz, cultivar Urucuia, produzidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG - Lambari - MG.

2.1 Preparo das sementes

Para avaliar a intensidade de dormência em que as sementes se encontravam, foi coletada uma amostra antes e outra após a secagem em terreiro de cimento (aproximadamente 13% de umidade) e beneficiamento. Essas amostras de sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito no item 2.2.2, antes e após o tratamento para quebra de dormência das sementes, em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias (Vieira et al., 1994).

A Tabela 3 apresenta as médias obtidas nestas determinações. Os dados de germinação indicam a presença de alta intensidade de dormência das sementes.

Detectada a dormência das sementes, formou-se um lote de 320 kg após o beneficiamento, que foi expurgado com fosfina, homogeneizado, dividido em 16 parcelas de 20 kg, acondicionadas em sacos de papel multifoliado e armazenadas na UFLA (Lavras-MG) e na AGROCERES (Patos de Minas-MG),

por um período de 12 meses. Em cada local, foram utilizados dois ambientes de armazenamento, um aberto, sem controle de temperatura e umidade relativa (armazém convencional) e outro com controle denominado câmara fria seca, cada qual contendo 4 parcelas.

Tabela 3 - Médias de porcentagem de germinação (GER) e de sementes dormentes (SD) de arroz antes e após a secagem e beneficiamento das sementes, com e sem tratamento para quebra de dormência em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias. UFLA-Lavras-MG, 2000.

Cultivar	Antes beneficiamento				Após beneficiamento			
	Sem trat.		Com trat.		Sem trat.		Com trat.	
	GER.	S.D.	GER.	S.D.	GER.	S.D.	GER.	S.D.
Urucuia	38	60	82	15	45	52	94	04

As sementes submetidas ao ambiente de armazém convencional tiveram a temperatura e a umidade relativa do ar, monitoradas através de termohigrógrafo (Tabela 4A). Nas condições de câmara fria e seca, o ambiente foi ajustado para manter temperatura próxima de 10°C e umidade relativa do ar de 50%, em Lavras e temperatura próxima de 15°C e umidade relativa do ar de 55%, em Patos de Minas.

2.2 Avaliações

Para estudar as mudanças na intensidade de dormência das sementes ao longo do período de armazenamento, foram coletadas amostras trimestralmente em cada uma das parcelas, e submetidas à determinação do grau de umidade, ao

teste de germinação e às determinações da atividade enzimática da α -amilase (E.C.3.2.1.1) e da quantidade de proteínas solúveis.

2.2.1 Determinação do grau de umidade

Foi efetuada, pelo método de estufa $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, utilizando 2 repetições para cada amostra, conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média por amostra.

2.2.2 Teste de germinação

Foi realizado, utilizando 4 repetições de 50 sementes por amostra, semeadas em papel toalha no sistema de rolo, umedecido em água na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram dispostos em germinador previamente regulado a uma temperatura de 30°C . As avaliações foram feitas aos 7 e 14 dias após a semeadura, seguindo as prescrições contidas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), computando-se apenas as porcentagens de plântulas normais.

No final do teste, as sementes que permaneceram dormentes tiveram sua viabilidade avaliada pelo teste de tetrazólio, para comprovação de sua dormência. Para tanto, as sementes foram seccionadas longitudinalmente, através do embrião e submersas em solução de 2, 3, 5 trifenil tetrazólio a 0,1%, por um período de 4 horas, à temperatura de 30°C na ausência de luz para coloração. Após esse período, as sementes foram lavadas em água corrente e tiveram a sua viabilidade avaliada, seguindo critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), sendo os resultados expressos em porcentagem de sementes dormentes.

2.2.3 Determinação da atividade da α -amilase e de proteínas

Realizadas através da eletroforese e da espectrofotometria. Para tanto, 100 sementes de cada tratamento, devidamente amostradas e homogeneizadas, foram colocadas para germinar no sistema de rolo de papel, em germinador à temperatura de 30°C, até que uma das amostras apresentou 50% ou mais de protrusão da radícula, o que ocorreu aproximadamente em 60 horas. Em seguida, foram retiradas, manualmente, a pálea e a lema (casca) das sementes, e os cariópses contendo ou não a radícula em início de emissão foram triturados a frio, em moinho refrigerado e armazenados em freezer a - 84°C.

Para determinar a atividade enzimática da α -amilase por meio da eletroforese, foram utilizadas 100mg de sementes trituradas, às quais adicionou-se 200 μ L do tampão de extração (Tris-HCl 0,2M; 1% β mercapto-etanol; 0,4 % PVP; 0,4% PEG + 1mM EDTA; pH 8,0). Os tubos Eppendorf, contendo os homogeneizados, foram mantidos em gelo por 24 horas. Após esse período, as amostras foram ressuspensas e centrifugadas a 16.000 x/g por 60 minutos a 4°C, e os sobrenadantes foram recolhidos.

Para determinar a atividade da α -amilase e a quantidade de proteínas solúveis, através da espectrofotometria, procedeu-se a extração conforme metodologia acima descrita, alterando o volume do tampão de extração para 1 mL.

2.2.3.1 Eletroforese

Foram aplicados 40 μ L de cada sobrenadante obtido, em géis de pôliacrilamida a 4,5% (gel concentrador) e 7,5 % (gel separador contendo 5 % de amido solúvel). O sistema gel/eletrodo utilizado foi Tris-glicina pH 8,9. As corridas eletroforéticas foram efetuadas a 12mA no gel concentrador e 24 mA no gel separador.

Após a eletroforese, os géis sob condições de ambiente, foram revelados para a atividade enzimática da α -amilase. Para tal, foram incubados em 100 mL de solução tampão acetato de sódio 50 mM + 200 mg de CaCl_2 (10%) a 50°C por 60 minutos. Em seguida, foram lavados em água destilada e colocados em 100 mL de uma solução de I_2 10 mM contendo KI 14mM, até o aparecimento de bandas acromáticas (claras) com fundo azulado (Alfenas et al., 1998).

2.2.3.2 Espectrofotometria

Em parte dos sobrenadantes obtidos para esta análise, utilizou-se amido na concentração de 0,5 %. A determinação dos grupos redutores foi realizada conforme Noelting e Bernfeld (1948). Em cada determinação, a mistura de reação foi incubada por 5 diferentes períodos de tempo. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo que os tubos experimentais. A atividade da α -amilase calculada foi expressa em m moles de substrato hidrolisado por minuto (mileunidade – mU).

A determinação da quantidade de proteínas solúveis foi realizada na outra parte dos sobrenadantes, seguindo a metodologia descrita por Bradford (1976), utilizando albumina bovina como padrão. Os resultados foram expressos em miligramas de proteínas solúveis por 100mg de pó de sementes (mg/100mg).

Posteriormente, foi calculada a atividade específica, dividindo-se a atividade da α -amilase pela quantidade de proteínas solúveis, sendo os resultados expressos em mileunidade por miligrama (mU/mg).

2.3 Procedimentos estatísticos

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo os tratamentos em esquema de parcela sub-dividida, onde os

tratamentos da parcela foram constituídos por um fatorial 2 x 2 (dois locais e dois ambientes de armazenamento) e as sub-parcelas, pelas épocas de avaliação.

Para comparação dos resultados, foram utilizadas análises de variância, fazendo-se a transformação dos valores expressos em porcentagem para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, exceção feita à variável umidade. Para as variáveis que apresentaram efeito significativo pelo teste F, realizaram-se análises de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliar grau de umidade, germinação e sementes dormentes, revela que todos os fatores foram significativos para as três variáveis avaliadas, exceção feita ao fator local de armazenamento para a variável germinação (Tabela 2A).

3.1 Grau de umidade

Os resultados médios ajustados e as equações de regressão referentes à avaliação do grau de umidade das sementes de arroz, armazenadas em Lavras e Patos de Minas, sob condições de armazém convencional e câmara fria e seca, encontram-se representados pela Figura 4. Pode ser observado, durante todo período de armazenamento, que houve uma tendência de redução do grau de umidade das sementes em todos os ambientes estudados. Entretanto, foi verificado que as sementes armazenadas sob condições de câmara fria e seca, sofreram maior redução em relação ao grau de umidade inicial, naturalmente devido à menor temperatura e umidade relativa do ar nessas condições (Lavras $T^{\circ} 10 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR $50 \pm 1\%$; Patos de Minas $T^{\circ} 15 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR $55 \pm 1\%$). Tais observações são reforçadas por relatos de Greg et al. (1970), os quais

mencionaram que, as sementes, devido à sua propriedade higroscópica, têm o seu conteúdo de umidade variando com a umidade relativa do ar.

3.2 Teste de germinação

A Figuras 5 e a Figura 6, respectivamente, apresentam as equações de regressão e os valores médios ajustados de germinação e de sementes dormentes de arroz, ao longo do armazenamento, tanto sob condições de armazém convencional, quanto sob de câmara fria seca, em Lavras e Patos de Minas. Para apresentação dos resultados, os dados foram destransformados.

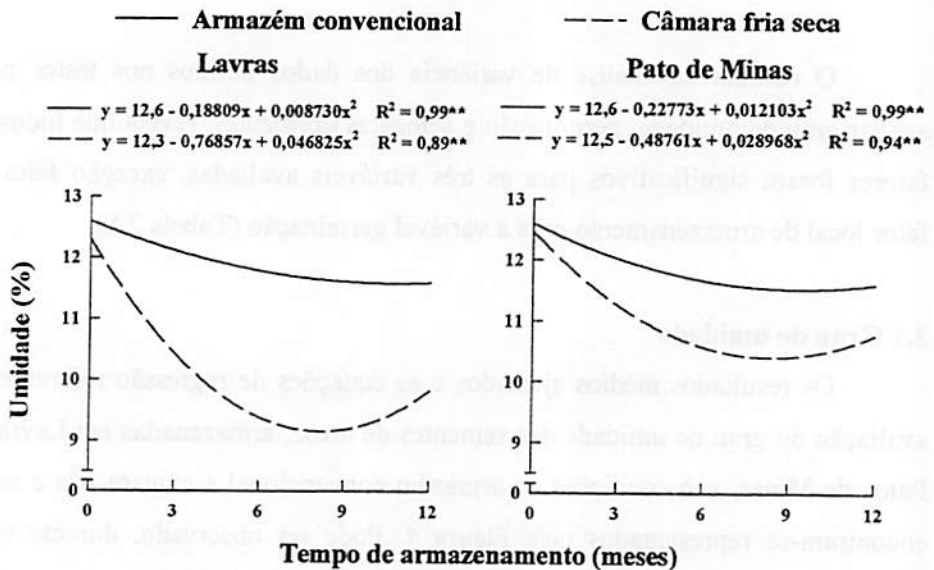


Figura 4 - Estimativa do grau de umidade de sementes de arroz, armazenadas em ambiente aberto (armazém convencional) e em ambiente controlado (câmara fria e seca), em Lavras e Patos de Minas, durante 12 meses. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Pela Figura 5, pode ser observado que, quando armazenadas sob condições de armazém convencional, a superação da dormência das sementes, ao longo do período de armazenamento, aconteceu de maneira mais rápida que na câmara fria e seca, tanto em Lavras quanto em Patos de Minas. Isto indica que com a elevação da temperatura do ambiente durante o armazenamento (Tabela 4A), houve uma tendência no sentido de reduzir a intensidade de dormência das sementes, o que proporcionou ganhos na porcentagem de germinação. Tal observação reforça relatos de Popinigis (1985) que afirmou que a temperatura influencia consideravelmente, dentro de certos limites, em todas as atividades biológicas das sementes armazenadas.

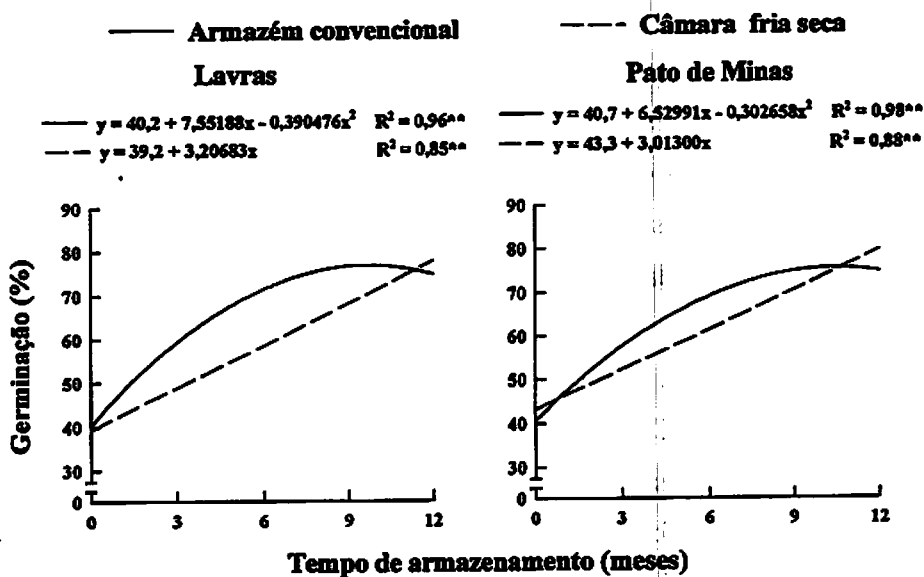


Figura 5 - Estimativa da porcentagem de germinação de sementes de arroz, armazenadas em ambiente aberto (armazém convencional) e em ambiente controlado (câmara fria seca), em Lavras e Patos de Minas, durante 12 meses. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Pode ser observado ainda que a germinação máxima para o ambiente de armazém convencional, ocorreu aos 9,8 meses em Lavras, cujo valor foi de 95% (dado destransformado), e aos 10,8 meses em Patos de Minas, com valor de 94% (dado destransformado). A partir desses pontos, verifica-se que houve uma tendência de redução da porcentagem de germinação, devido a deterioração natural das sementes. Tais observações estão de acordo com Ross (1980), o qual destacou que as condições de armazenamento influenciam muito mais a deterioração, do que as características fisiológicas, bioquímicas e genéticas da própria semente.

Pode ser notado, ainda, que nas sementes armazenadas na câmara fria e seca, nos dois locais, há uma tendência de acréscimo linear na porcentagem de germinação, ao longo do período de armazenamento. Provavelmente, tal fato está relacionado às oscilações na umidade relativa do ar, ocorridas em ambos os locais, durante o armazenamento, quando sob condições de armazém convencional (Tabela 4A), concordando com Barton (1961), que relatou que as sementes armazenadas sob condições de flutuação de umidade, podem perder a viabilidade mais rapidamente do que as sementes armazenadas em condições de umidade constante.

Na Figura 6, encontram-se as representações da porcentagem de sementes dormentes. Comparando esta figura com a anterior (Figura 5), observa-se uma relação inversa, o que já era esperado, pois, onde a porcentagem de sementes dormentes foi menor, próximo ao 9º e 10º mês de armazenamento, a porcentagem de germinação foi maior.

- Pelos resultados obtidos para os dois locais de armazenamento, pode-se constatar que no armazém convencional, a superação da dormência das sementes de arroz mostrou uma tendência de responder positivamente à elevação da temperatura (Tabela 4A). Tais resultados assemelham-se aos relatos de Jenning

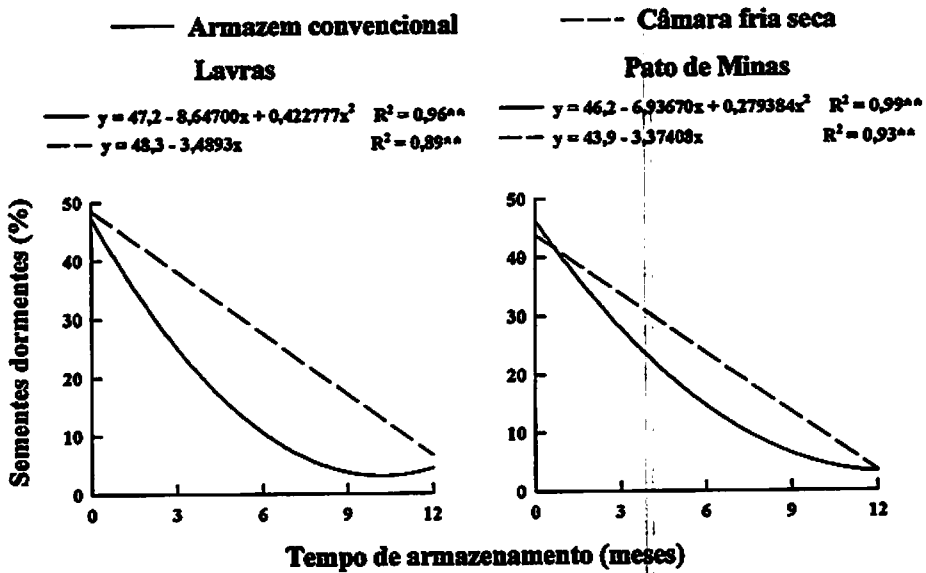


Figura 6 - Estimativa da porcentagem de sementes dormentes de arroz, armazenadas em ambiente aberto (armazém convencional) e em ambiente controlado (câmara fria e seca), em Lavras e Patos de Minas, durante 12 meses. UFLA, Lavras-MG, 2000.

e Jesus Júnior (1964) e Bewley e Black (1994), os quais mencionaram que a dormência das sementes diminui, com o período de armazenamento, principalmente com a elevação da temperatura. Entretanto, verifica-se que na câmara fria e seca, também ocorreu a superação da dormência das sementes, embora esta tenha se processado de maneira mais lenta. Esse comportamento das sementes, nos dois ambientes de armazenamento, sugere que, apesar da temperatura e umidade relativa do ar serem importantes fatores para a quebra de dormência, existem outros fatores que fazem com que, ao longo do armazenamento, a dormência seja superada, independente das condições do armazenamento. Dentre os fatores apontados, destacam-se os compostos

fenólicos inibidores da germinação, localizados no endosperma, embrião e casca, com maior concentração no embrião, promovendo redução na disponibilidade do oxigênio para o mesmo (Hayashi, 1987; Amaral, 1992). Acredita-se que quando se utiliza o armazenamento da semente seca por um determinado período, existe a possibilidade de ocorrer a difusão lenta e paulatina de O₂ para o seu interior, determinando a redução gradativa da quantidade de inibidores da germinação, favorecendo, desta maneira, a superação da dormência e, conseqüentemente, a sua germinação (Olatoye e Hall, 1972).

Com base nos resultados, vale ressaltar que o armazenamento de sementes de arroz em câmara fria e seca, ainda preserva uma pequena taxa de sementes dormentes na época apropriada para o plantio, em torno de 6 meses de armazenamento (Tabelas 4 e 5).

3.3 Atividade da α -amilase

Os resultados referentes à análise eletroforética de atividade enzimática da α -amilase encontram-se representados pelas Figuras 7, 8, 9, 10 e 11.

Na Figura 7, encontra-se a avaliação da atividade da α -amilase antes do armazenamento (zero mês) e nos tratamentos referenciais (sementes antes do beneficiamento sem e com tratameto para quebra de dormência, e sementes após beneficiamento com quebra de dormência). Nas demais figuras, encontram-se a avaliação da atividade desta enzima, ao longo do período de armazenamento, sob condição de armazém convencional e em câmara fria e seca.

Pelas Figuras 7 e 8, pode ser observado que a α -amilase apresenta baixa atividade nas sementes, tanto antes do armazenamento, quanto após três meses, quando armazenadas em câmara fria e seca, com reduzida degradação do amido contido no gel.

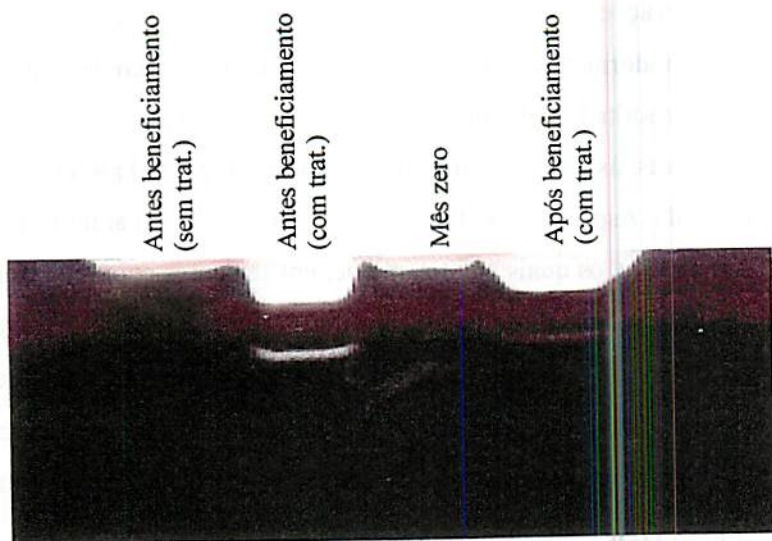


Figura 7 - Perfis eletroforéticos de atividade enzimática da α -amilase, em sementes de arroz recém-germinadas, antes do armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2000.

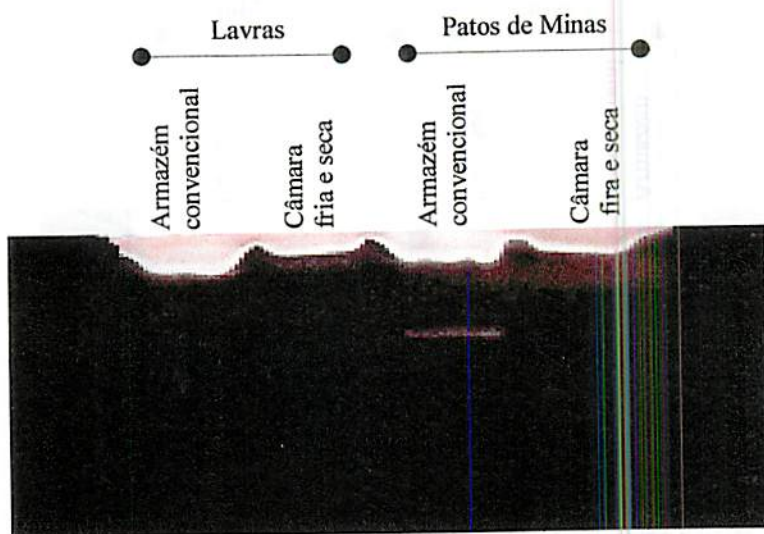


Figura 8 - Perfis eletroforéticos de atividade enzimática da α -amilase, em sementes de arroz recém-germinadas, após três meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Estas observações indicam que a atividade da α -amilase está diretamente relacionada com a dormência das sementes. Isto pode ser comprovado pela consistência dos resultados de porcentagem de germinação e de sementes dormentes, referentes às mesmas amostras (Tabelas 4 e 5). Tais observações reforçam relatos de Aspinall e Paleg (1971), Petruzzelli e Taranto (1990) e Livesley e Bray (1991), os quais enfatizam que, em sementes com alto índice de dormência, a atividade da amilase tem se mostrado pequena. Pela Figura 8, pode ser observado, ainda, um aumento na atividade da α -amilase, que coincide com acréscimo no porcentual de germinação e redução de sementes dormentes (Tabelas 4 e 5), para aquelas amostras de sementes armazenadas em armazém convencional, para as duas localidades estudadas.

Pelas Figuras 9,10 e 11 observa-se um aumento na atividade da α -amilase, com o aumento do período de armazenamento, sendo que, a partir do 6º mês (Figura 9), a atividade enzimática atingiu os maiores níveis para as

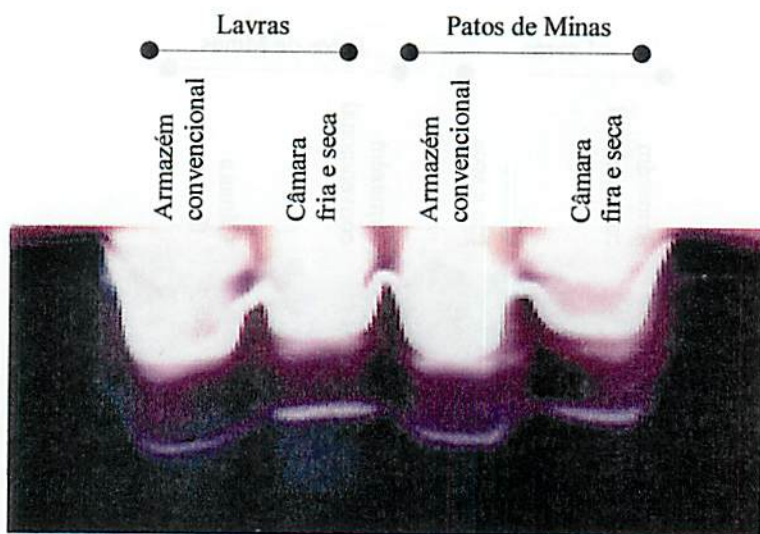


Figura 9 - Perfis eletroforéticos de atividade enzimática da α -amilase, em sementes de arroz recém-germinadas, após seis meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2000.

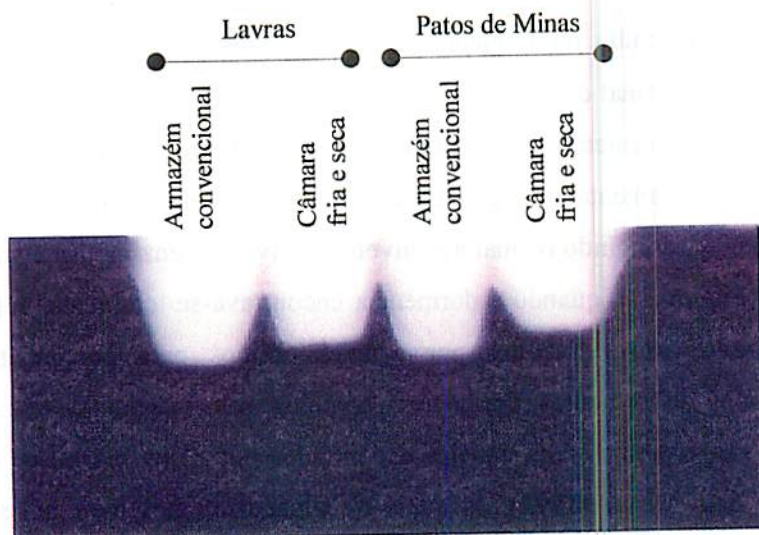


Figura 10 - Perfis eletroforéticos de atividade enzimática da α -amilase, em sementes de arroz recém-germinadas, após nove meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2000.

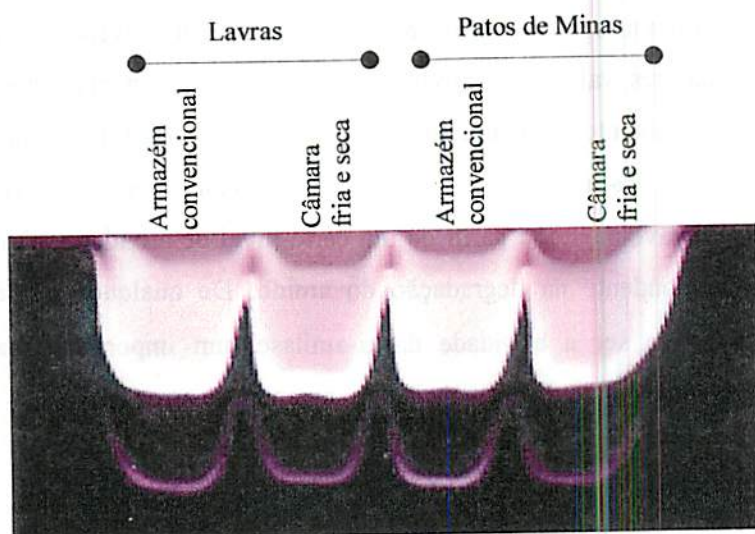


Figura 11 - Perfis eletroforéticos de atividade enzimática da α -amilase, em sementes de arroz recém-germinadas, após doze meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2000.

sementes armazenadas no ambiente de armazém convencional, permanecendo nestes níveis até o final do ensaio.

Já para as sementes armazenadas em ambiente de câmara fria e seca, a atividade foi aumentando gradativamente, ao longo do período de armazenamento, atingindo os maiores níveis de atividade enzimática apenas aos 12 meses (Figura 11), quando a dormência encontrava-se totalmente superada. Tais resultados são reforçados por aqueles obtidos para porcentagem de germinação e de sementes dormentes, contidos nas Tabelas 4 e 5. Estes resultados são coerentes com aqueles encontrados por Shaw e Ou-Lee citados por Das e Sem-Mandi (1992), os quais trabalhando com sementes de arroz, concluíram que a atividade da α -amilase é necessária para a germinação das sementes.

Resultados similares foram obtidos pela espectrofotometria na quantificação da atividade enzimática e da atividade específica da α -amilase (Tabela 6). Embora as sementes armazenadas em armazém convencional tenham apresentado maiores valores de atividade pela espectrofotometria, nos meses finais de armazenamento, esta superioridade não foi constatada da mesma forma pela atividade da α -amilase, no gel de eletroforese nem nas avaliações fisiológicas. Provavelmente, a partir de um certo nível de atividade, não ocorre aumento correspondente na degradação do amido. De qualquer forma esses resultados sugerem ser a atividade da α -amilase, um importante marcador bioquímico da intensidade de dormência das sementes de arroz.

Tabela 4 - Valores médios de germinação (%) de sementes de arroz ao longo do armazenamento, em diferentes locais e ambientes. UFLA-Lavras-MG, 2000.

GERMINAÇÃO (%)				
ÉPOCA (MESES)	LAVRAS		PATOS DE MINAS	
	Armazém convencional	Câmara fria e seca	Armazém convencional	Câmara fria e seca
0	45	45	45	45
3	67	41	66	56
6	94	83	90	88
9	94	89	93	91
12	93	93	93	93

Tabela 5 - Valores médios de sementes dormentes (%) de arroz ao longo do armazenamento, em diferentes locais e ambientes. UFLA-Lavras-MG, 2000.

SEMENTES DORMENTES (%)				
ÉPOCA (MESES)	LAVRAS		PATOS DE MINAS	
	Armazém convencional	Câmara fria e seca	Armazém convencional	Câmara fria e seca
0	52	52	52	52
3	24	53	24	35
6	1	13	5	8
9	1	6	2	5
12	1	3	1	2

Tabela 6 - Valores de atividade da α -amilase (mU), quantidade de proteínas solúveis (mg/100mg) e atividade específica (mU/mg) em extratos de sementes de arroz, quantificadas durante armazenamento em diferentes locais e ambientes. UFLA-Lavras-MG, 2000.

Época (meses)	Atividade α -amilase				Quantidade proteínas				Atividade específica			
	Lavras		Patos de Minas		Lavras		Patos de Minas		Lavras		Patos de Minas	
	Armaz. Convenc.	Armaz. Refrig.	Armaz. Convenc.	Armaz. Refrig.	Armaz. Convenc.	Armaz. Refrig.	Armaz. Convenc.	Armaz. Refrig.	Armaz. Convenc.	Armaz. Refrig.	Armaz. Convenc.	Armaz. Refrig.
0	77,75	77,75	77,75	77,75	0,52	0,52	0,52	0,52	148,68	148,38	148,38	148,38
3	132,82	66,41	126,34	113,38	0,66	0,59	0,63	0,63	200,93	111,80	199,90	179,11
6	682,80	349,85	660,97	355,43	0,65	0,57	0,62	0,56	1.055,33	615,94	1.064,37	640,41
9	706,19	414,64	712,67	427,60	0,70	0,67	0,69	0,68	1.010,28	616,11	1.034,35	627,90
12	735,80	498,85	720,21	505,08	0,66	0,70	0,67	0,69	1.111,48	712,64	1.079,78	728,83

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- 1- As condições de armazenamento influenciam na superação da dormência das sementes de arroz;
- 2- Sementes armazenadas em ambiente de armazém convecional superam a dormência em períodos menores que as sementes armazenadas em câmara fria e seca.
- 3- A atividade da enzima α -amilase aumenta à medida que a dormência das sementes é superada ao longo do armazenamento.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; DUSI, A.; ZERBINI JÚNIOR, F.M.; ROBINSON, I.P.; MICALES, J.A.; OLIVEIRA, J.R. de; DIAS, L.A. dos S.; SCORTICHINI, M.; BONDE, M.R.; ALONSO, S.K. de; JUNGHANS, T.G.; BRUNE, W. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos.** Viçosa, MG: UFV, 1998. 574p.
- AMARAL, A.S. Aspectos de dormência em sementes de arroz, *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre, v.45, n.405, p.3-6, nov./dez. 1992.
- ASPINALL, D.; PALEG, L.G. The deterioration of wheat embryo and endosperm function with age. *Journal Botany*, London, v.22, p. 925-935, 1971.
- BARTON, L.V. **Seed preservation and longevity.** London: Leonard Hill Books, 1961. 216p.

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 72, p.248-254, 1976.
- BRAGANTINI, C. *Conservação de Sementes*. Brasília: MEC, 1985. 18p. (Curso de Especialização por Tutoria à Distância: Sementes, Módulo 7).
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Regras para análise de sementes*. Brasília, 1992. 365p.
- DAS, G.; SEN-MANDI, S. Scutellar amilase activity in naturally aged and accelerated aged wheat seeds. *Annals of Botany*, London, v.69, n.6, p.497-501, Jan. 1992.
- GREG, B.R.; LAW, A.G.; VIRDI, S.S.; BALIS, J.S. *Seed processing*. Nova Delhi, 1970. 396p.
- HAYASHI, M. Relation between endogenous germinations inhibitors and dormancy in rice seeds. *Japan Agricultural Research Quartely*, Tsukuda, v.21, n.3, p.153-161, Dec. 1987.
- JENNINGS, P.R.; JESUS JÚNIOR, J. Effect of heat on breaking seed dormancy in rice. *Crop Science*, Madison, v.4, n.5, p.530-533, Sept./Oct. 1964.
- LIVESLEY, M.A.; BRAY, C.M. The effect of ageing upon α -amylase production and protein synthesis by wheat aleurone layers. *Annals of Botany*, London, v.68, n.1, p.69-73, July 1991.
- NOELTING, G.; BERNFELD, P. Sur les enzymes amylolytiques, III- La β amylase: dosage d'activeté et contrôle de l'absence d' α -amylase. *Helvetica Chimica Acta*, Basel, v.31, p.286-290, 1948.
- OLATOYE, S.T.; HALL, M.A. Interaction of ethylene and light on dormant weed seeds. In: HEYDECKER, W. (ed). *Seed ecology*. Norwich, Englan: Pennsylvania State University, 1972. p.233-249.
- PETRUZZELLI, L.; TARANTO, G. Amylase activity and loss of viability in wheat. *Annals of Botany*, London, v.66, n.4, p.375-380, Oct. 1990.

POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. 2.ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289p.

ROOS, E.E. Physiological, biochemical, and genetic changes in seed quality during storage. Hort Science, Alexandria, v.15, n.6, p.781-783, Dec. 1980.

TAYLORSON, R.B.; HENDRICKS, S.B. Dormancy in seeds. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v.28, p.331-354, 1977.

VIEIRA, A.R.; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, V.D. de; FRAGA, A.C. Efeitos de tratamentos pré-germinativos na superação da dormência de sementes de arroz e na atividade enzimática da peroxidase. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.29, n.4, p.535-542, abr.1994.

CAPÍTULO IV

DORMÊNCIA E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ARROZ ARMAZENADAS EM DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DE MINAS GERAIS.

RESUMO

VIEIRA, Antônio Rodrigues. **Dormência e qualidade fisiológica de sementes de arroz armazenadas em diferentes regiões do Estado de Minas Gerais.** Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

A necessidade de se conservar sementes em armazém convencional, por períodos prolongados, é um dos maiores obstáculos enfrentados pela tecnologia de sementes. Com o objetivo de avaliar a influência das condições do ambiente e da embalagem sobre a superação da dormência e a preservação da qualidade fisiológica das sementes de arroz, realizou-se este trabalho em quatro regiões distintas do Estado de Minas Gerais. Para tanto, as sementes da cultivar irrigada Urucúia foram acondicionadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, armazenadas nas bases físicas da EPAMIG no Sul de Minas (Lambari), Zona da Mata (Leopoldina), Alto Paranaíba (Patos de Minas) e Norte de Minas (Janaúba), por um período de 36 meses. Trimestralmente, a dormência das sementes foi avaliada até a sua completa superação (12 meses) e, semestralmente, foi avaliada a qualidade fisiológica pelos testes de teor de umidade, de germinação e de vigor por meio dos testes de envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência e estande aos 12 e 21 dias. Foi verificado que a superação da dormência das sementes foi influenciada pelas condições de armazenamento, independente da embalagem utilizada. As embalagens influenciaram na conservação das sementes de arroz, variando em função do local e período de armazenamento. As regiões Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba, são promissoras para o armazenamento prolongado de sementes de arroz (28 e 31 meses respectivamente), porém, a Zona da Mata - Leopoldina não apresenta condições propícias para armazenar sementes.

ABSTRACT

VIEIRA. Antônio Rodrigues. **Dormancy and physiological quality of rice seeds stored in different regions of Minas Gerais State.** Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Thesis - Doctorate in Plant Science).

The need of keeping seeds in conventional warehouses for long periods is one of greatest problems that seed technology faces. With the goal of evaluating the effects of environmental conditions on the storage potential, the dormancy and the physiological quality of rice seeds, this work was done in four distinct regions of Minas Gerais State. To do that, the seeds from the irrigated cultivar Urucuia were packed in bags of multilayer paper and of polyethylene twisted strands, stored in the EPAMIG branches in Sul de Minas (Lambari), Zona da Mata (Leopoldina), Alto Paranaíba (Patos de Minas) and Norte de Minas (Janaúba) regions, during 36 months. Every 3 month, the seed dormancy up to its complete break and every, 6 month, the physiological quality was evaluated bay the tests of moisture contend, germination and vigor using the accelerated development test, emergence velocity index and stands at 12 and 21 days. It was observed that seed dormancy was affected by storage conditions, and, the bags affected seed preservation. Alto Paranaíba - Patos de Minas and Norte de Minas - Janaúba regions are promissing for the long storage of rice seeds (28 and 31 months respectively), on the other hand, Zona da Mata - Leopoldina regions do not present good conditions for rice seed storage.

1 INTRODUÇÃO

O processo de produção de sementes de arroz envolve várias etapas, entre as quais a de armazenamento, cujo objetivo básico é manter o nível de qualidade das sementes. Conseqüentemente, conhecer o comportamento das sementes em diferentes condições de armazenamento, é extremamente importante para um manejo racional da espécie.

A preservação da qualidade fisiológica de sementes mantidas em armazém convencional, por períodos prolongados, é um dos maiores obstáculos enfrentados pela tecnologia de sementes. No armazenamento, independentemente dos fatores hereditários inerentes à própria espécie, a longevidade das sementes está sujeita à ação de vários fatores externos, como a temperatura e a umidade relativa do ar, que são os que mais afetam a sua qualidade. A umidade relativa do ar controla o teor de água das sementes, enquanto a temperatura afeta a velocidade dos processos bioquímicos das mesmas. Com exceção de certas espécies, quanto maior for a umidade das sementes, menor será o período de conservação, por favorecer o avanço do processo de deterioração (Carvalho e Nakagawa, 1988; Aguiar, Piña-Rodrigues e Figliolia, 1993).

Outro fator que tem grande influência na manutenção da qualidade das sementes, no decorrer do armazenamento, é a embalagem utilizada para o seu acondicionamento. Quando são armazenadas em embalagens, através das quais ocorre a permuta de vapor de água com a atmosfera, as sementes podem ganhar ou perder umidade, dependendo da temperatura e umidade relativa do meio ambiente (Harrington, 1971; Caneppele, 1994).

Entretanto, além das finalidades básicas do armazenamento, em muitos casos ele constitui uma etapa de preparação das sementes antes da comercialização ou até mesmo da próxima sementeira. É o caso, para sementes

de cereais como o arroz, cujas cultivares irrigadas normalmente apresentam forte dormência após a colheita. Embora o período de dormência das sementes de arroz seja variável entre cultivares, as condições de armazenamento, particularmente a temperatura, podem reduzir sensivelmente este período, proporcionando aumentos significativos na germinação dessas sementes.

Em face da escassez de informações de caráter regional sobre a influência do armazenamento na qualidade de sementes de arroz irrigado, bem como na superação da dormência de suas sementes, a presente pesquisa teve, como objetivo, avaliar a qualidade fisiológica, as variações ocorridas na fase de dormência durante o período de armazenamento das sementes, em diferentes embalagens e regiões do estado de Minas Gerais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras – UFLA, de 1994 a 1997.

2.1 Preparo das sementes

Sementes básicas de arroz, cultivar Urucuia, produzidas pela EPAMIG (Lambari-MG) e submetidas a secagem em terreiro de cimento, até aproximadamente 13% de umidade, foram beneficiadas. Posteriormente, coletou-se uma amostra para avaliação do estado de dormência, pelo teste de germinação, conforme descrito no item 2.2.2, anteriormente e após as sementes terem sido submetidas ao tratamento de superação da dormência, pelo método de estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 7 dias (Vieira et al., 1994).

Detectada a dormência das sementes, formou-se um lote de 1.280Kg que foi expurgado com fosfina, homogeneizado, dividido em 32 parcelas de 40Kg, acondicionadas em embalagens semi-permeável de papel multifoliado e rafia. Quatro parcelas relativas a cada tipo de embalagem foram armazenadas em armazém convencional (sem controle atmosférico), em quatro diferentes unidades experimentais da EPAMIG (Lambari, Leopoldina, Patos de Minas e Janaúba), representando as regiões Sul de Minas, Zona da Mata, Alto Paranaíba e Norte de Minas, respectivamente, por um período de 36 meses. Em cada local, a temperatura e a umidade relativa do ar foram monitoradas através de termohigrógrafo (Tabelas 5A, 6A, 7A e 8A).

2.2 Avaliações

Semestralmente, foram coletadas amostras nas diversas parcelas ao longo do período de armazenamento, e suas sementes foram submetidas à determinação do grau de umidade, teste de germinação e testes de vigor, pelos métodos de envelhecimento artificial, índice de velocidade de emergência e estando aos 12 e 21 dias. A intensidade de dormência foi avaliada pelo teste de germinação, de 3 em 3 meses até o 12º mês.

2.2.1 Determinação do grau de umidade

Foi efetuada pelo método de estufa $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, utilizando-se duas repetições para cada amostra, conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média por amostra.

2.2.2 Teste de germinação

Foi realizado, utilizando quatro repetições de 50 sementes por amostra, semeadas em papel toalha no sistema de rolo umedecido com água na

quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram dispostos em germinador previamente regulado, a uma temperatura de 30°C. As avaliações foram feitas aos 7 e 14 dias após semeadura, seguindo as prescrições contidas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), computando-se apenas a porcentagem de plântulas normais.

No final do teste, as sementes que permaneceram dormentes tiveram sua viabilidade avaliada pelo teste de tetrazólio, para comprovação de sua dormência. Para tanto, as sementes foram seccionadas longitudinalmente, através do embrião e submersas em solução de 2, 3, 5 trifênil tetrazólio a 0,1%, por um período de 4 horas, à temperatura de 30°C, na ausência de luz para coloração. Após esse período, as sementes foram lavadas em água corrente e tiveram a sua viabilidade avaliada, seguindo critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes dormentes.

2.2.3 Envelhecimento artificial

Foi realizado em quatro repetições de 50 sementes por amostra, as quais foram mantidas em estufa incubadora a 42°C, por 120 horas, instalado pelo método do gerbóx adaptado, descrito por Krzyzanowsky, França Neto e Hening (1991). Após esse período, as sementes foram colocadas para germinar, seguindo a mesma metodologia descrita para o teste de germinação contida no item 2.2.2.

2.2.4 Índice de velocidade de emergência

Este teste foi realizado em câmara de crescimento, sob condições controladas, para se evitar possíveis interferências climáticas, nos diferentes períodos do ano.

A semeadura foi feita em bandejas de plástico, contendo um substrato de solo e areia, na proporção 1:1. Para cada amostra, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, de maneira que cada bandeja constituiu uma parcela. Após a semeadura, as bandejas foram dispostas ao acaso em uma câmara de crescimento vegetal, com temperatura regulada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, em regime alternado de luz e escuro (12 horas). As avaliações foram realizadas diariamente, computando-se o número de plântulas emergidas, a cada dia, até a estabilização do estande. Foram consideradas emergidas as plântulas que apresentavam tamanho igual ou superior a 3mm. O índice de velocidade de emergência foi determinado pelo somatório do número de plântulas emergidas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a emergência, de acordo com a fórmula descrita por Maguirre (1962).

2.2.5 Emergência aos 12 e 21 dias

Utilizando-se do teste de índice de velocidade de emergência, foram computadas as plântulas estabelecidas aos 12 e 21 dias após a semeadura, obtendo-se respectivamente os estandes, os quais foram expressos em porcentagem.

2.3 Procedimentos estatísticos

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo os tratamentos em esquema de parcela sub-dividida, onde os tratamentos da parcela foram construídos por um fatorial 4×2 (quatro locais e duas embalagens), e as sub-parcelas, pelas épocas de avaliação.

Para comparação dos resultados, foram realizadas análises de variância, fazendo-se a transformação dos valores expressos em porcentagem para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, exceção feita às variáveis umidade e índice de velocidade de

emergência. Para as variáveis que apresentaram efeito significativo pelo teste F, realizaram-se análises de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância para os resultados de grau de umidade, teste de germinação, sementes dormentes, envelhecimento artificial, índice de velocidade de emergência e estandes aos 12 e 21 dias, revelou significância para local, época e interações época x local e época x local x embalagem. Para embalagens, apenas os resultados de umidade e germinação foram significativos (Tabela 3A).

3.1 Grau de umidade

Pôde ser observado pelos resultados médios ajustados e pelas equações de regressão, referentes à avaliação do grau de umidade das sementes de arroz armazenadas sob condições de armazém convencional, nas quatro regiões estudadas (Figura 12) que, tanto para a embalagem de papel multifoliado, quanto para a de rafia, ocorreram pequenas alterações em relação ao percentual de umidade inicial. Vale ressaltar, no entanto, que em nenhuma das condições, a umidade ao longo do armazenamento excedeu a 13%, permanecendo dentro dos padrões estabelecidos pela Comissão Estadual de Sementes e Mudas (CESM-MG, 1985). Em Leopoldina, Patos de Minas e Janaúba, houve uma tendência de redução do grau de umidade das sementes, enquanto que, em Lambari, esta situação se comportou de maneira inversa. Como o grau de umidade das sementes está diretamente relacionado com a umidade relativa do ar, as alterações ocorridas durante o armazenamento podem ser explicadas em função das oscilações da umidade relativa do ar (Tabelas 5A, 6A, 7A e 8A) associadas a

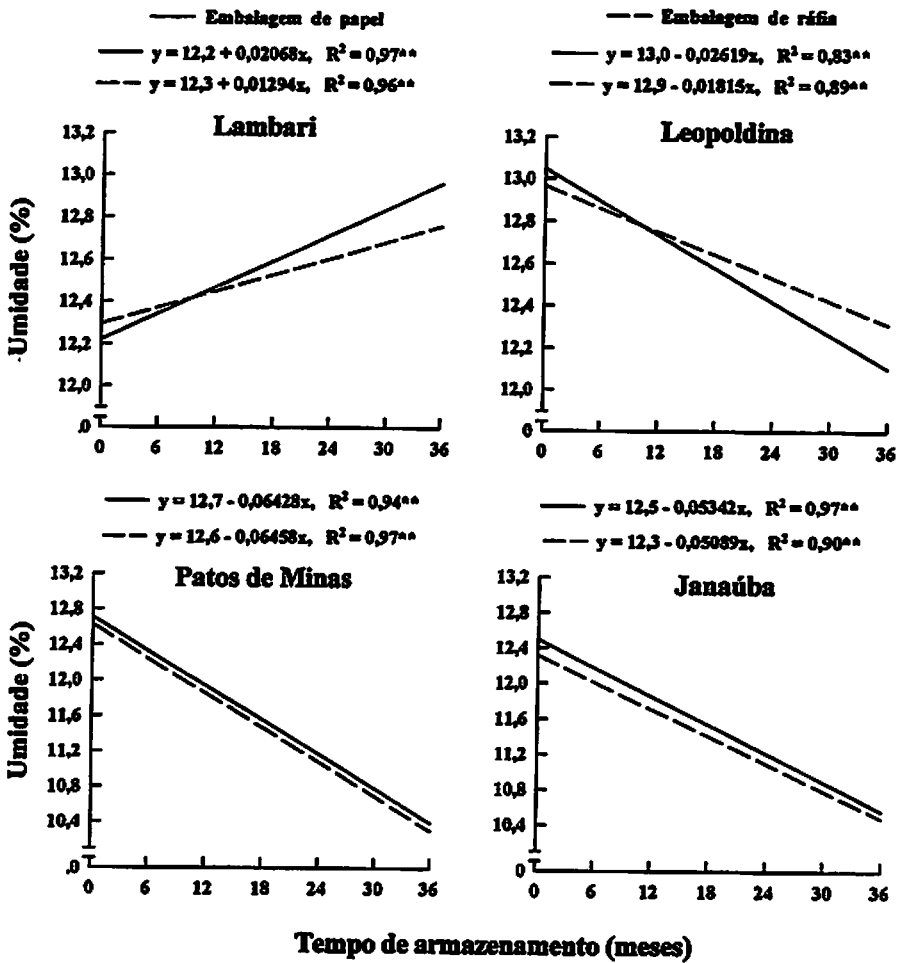


Figura 12 - Estimativa do grau de umidade de sementes de arroz, armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba. UFLA, Lavras - MG, 2000.

eventuais efeitos das embalagens. Estas observações estão de acordo com Macedo, Groth e Soave (1998), os quais, trabalhando com sementes de algodão, concluíram que a umidade relativa do ar durante o armazenamento, influenciou significativamente o grau de umidade das sementes acondicionadas em embalagens de papel multifoliado e plástico trançado. Entretanto, estudos desenvolvidos por Toole (1973), revelaram que as sementes de feijão conservam-se bem a 11% de umidade, em ambientes a 21°C. Porém, se a temperatura se elevar a 26,5°C, a umidade da mesma deverá abaixar a 8%, para que haja boa conservação da semente.

3.2 Teste de germinação

As Figuras 13 e 14, respectivamente, apresentam as equações de regressão e os dados ajustados para valores médios de germinação e de sementes dormentes de arroz, obtidos ao longo do armazenamento, para as quatro regiões estudadas.

Pôde ser observado pela Figura 13 que, em todas as regiões, o maior ganho em porcentagem de germinação ocorreu nos primeiros meses de armazenamento, independente do tipo de embalagem empregada. O ganho significativo em germinação no início do armazenamento, foi devido à rápida superação da dormência. Vale ressaltar que os lotes de sementes armazenados em Lambari, Patos de Minas e Janaúba foram os que obtiveram os maiores ganhos. Apesar de a temperatura e a umidade relativa das três regiões terem sido diferentes, parece existir uma relação ideal entre os dois fatores (Tabelas 5A, 7A e 8A). De acordo com Delouche et al. (1973) e Canepelle (1994), a umidade relativa e a temperatura no local de armazenamento são os fatores mais importantes que afetam a qualidade das sementes, durante o período de armazenamento. Os autores consideram, ainda, como mais importante, a umidade relativa, em razão da sua relação com o grau de umidade das sementes.

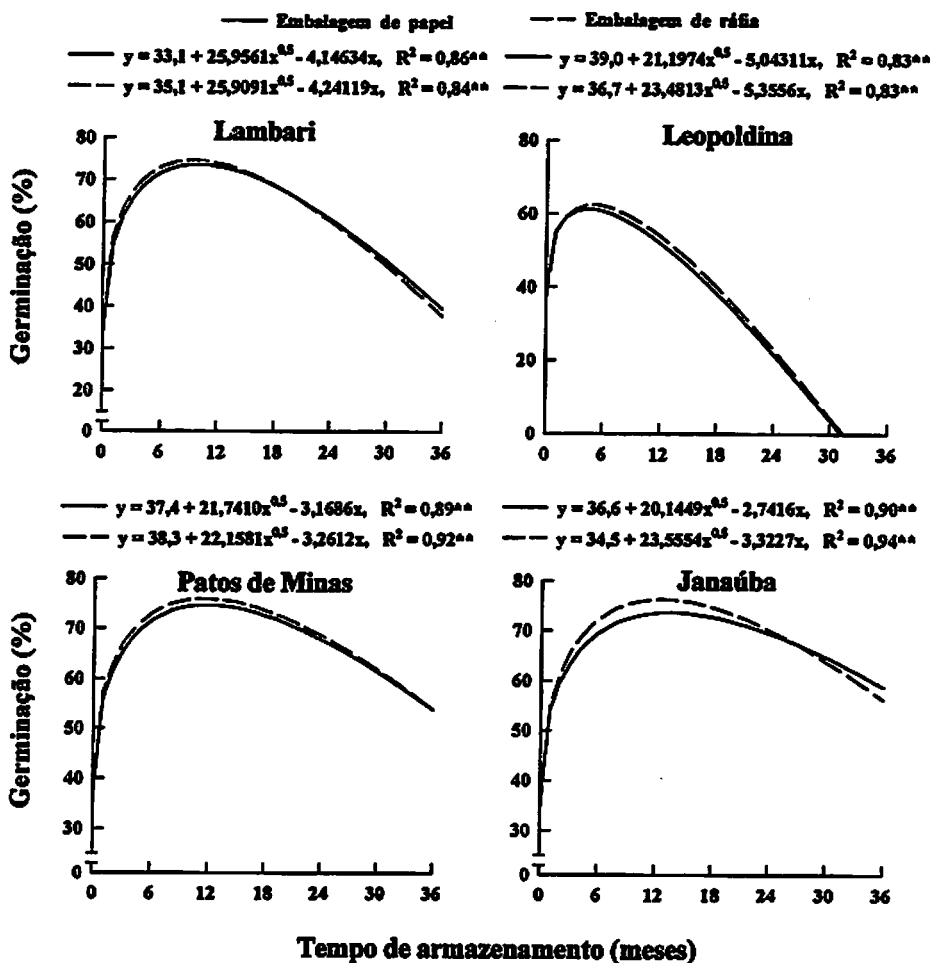


Figura 13 - Estimativa da porcentagem de germinação de sementes de arroz, armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba.. UFLA, Lavras - MG, 2000.

Para Greg et al. (1970), as sementes, devido à sua propriedade higroscópica, têm o seu conteúdo variando com a umidade relativa do ar, embora não com a mesma velocidade das mudanças que ocorrem na umidade relativa.

Pôde ser verificado ainda que o máximo de germinação também variou em função da região em que os lotes encontravam-se armazenados, sendo que, para a maioria das regiões, isto ocorreu por volta dos 12 meses, exceção para os lotes armazenados em Lambari, que foi por volta dos 9 meses. Franco et al. (1997) encontraram resultados semelhantes, embora neste caso, a superação da dormência das sementes de arroz tenha ocorrido em tempos menores (90 a 120 dias).

Em relação aos lotes armazenados em Lambari, observa-se que a germinação máxima para as sementes acondicionadas em embalagem de papel multifoliado ocorreu aos 9,8 meses de armazenamento, cujo valor foi de 92% (dado destransformado) e, para as sementes acondicionadas em embalagens de rafia, foi aos 9,3 meses de armazenamento, com um valor de 93 % (dado destransformado). A partir desses pontos, verifica-se que houve uma tendência de queda do porcentual de germinação, provavelmente devido às condições no armazenamento, principalmente à alta umidade relativa do ar (Tabela 5A). A umidade relativa do ar, como se sabe, está estreitamente relacionada à viabilidade e qualidade fisiológica da semente, sendo que ela afeta a manutenção da qualidade das sementes durante o armazenamento, em razão da sua relação com o grau de umidade das sementes (Delouche et al., 1973 e Canepelle, 1994). Deste modo, segundo Baskin e Baskin (1998), se houver variações no ambiente que acarretem modificações na umidade das sementes, durante um certo período de tempo, os embriões poderão sofrer alterações nos seus constituintes celulares, vindo a perder sua viabilidade por completo.

Já em Patos de Minas, a germinação máxima para as sementes acondicionadas em embalagem de papel multifoliado, ocorreu aos 11,8 meses de

armazenamento, com percentual de 93% (dado destransformado) e, para as sementes acondicionadas em embalagem de rafia, aos 11,6 meses de armazenamento, com um valor de 94% (dado destransformado). Em Janaúba, essa germinação máxima ocorreu aos 13,5 meses, com valores de 92% (dado destransformado) para embalagem de papel multifoliado e, aos 12,6 meses, com valor de 94% (dado destransformado) para embalagem de rafia.

Mesmo sabendo que a qualidade fisiológica tende a reduzir ao longo do armazenamento, fato este evidenciado na Figura 13, verifica-se que Patos de Minas e Janaúba apresentaram melhores condições para o armazenamento dos lotes de sementes de arroz. Esses ambientes propiciaram a manutenção do percentual de germinação das sementes acima do padrão mínimo (80%) estabelecido pela Comissão Estadual de Sementes e Mudas - CESM/MG, por um período próximo a 30 meses. Tal fato provavelmente esteja relacionado às menores umidades relativas, assim como às menores variações de temperatura ocorridas nestas regiões, durante o referido período (Tabelas 7A e 8A). Essas observações estão de acordo com Hall (1974) e Delouche e Welch (1975), os quais relataram que as condições de armazenamento são de fundamental importância para a preservação da qualidade das sementes, no sentido de prolongar sua longevidade, principalmente quando as variações das condições do ambiente são pequenas. Marcos Filho (1976) menciona que normalmente a baixa umidade relativa do ar é um dos mais importantes fatores na manutenção da germinação e vigor das sementes de grandes culturas por determinado período de armazenamento. Da mesma forma, Greg et al. (1970), Delouche et al. (1973), Justice e Bass (1979), Popinigis (1985) e Bewley e Black (1994), relatam que a temperatura é outro fator do ambiente que influencia na longevidade da semente, afetando diretamente a velocidade dos processos bioquímicos das sementes armazenadas.

É importante ressaltar ainda que, apesar das diferenças estatísticas detectadas na germinação das sementes, quando armazenadas em embalagens de papel multifoliado e rafia, ao longo do período de armazenamento, em valores absolutos, essas variações não foram marcantes. Entretanto, há uma tendência de superioridade da embalagem de rafia, em relação à de papel multifoliado, até no 24º mês de armazenamento, principalmente para Janaúba. A partir deste ponto, a queda da germinação neste tipo de embalagem tende a ser superior à da embalagem de papel, apresentando-se inclusive mais acentuada em Lambari e Janaúba. Tais fatos contradizem relatos de Condé e Garcia (1984), os quais reportam que a maior permeabilidade da embalagem promoverá facilidades para que a umidade do meio ambiente entre em contato com as sementes e, assim, haverá maior atividade de microrganismos, insetos e do metabolismo da própria semente, proporcionando então um maior consumo de reservas. Dessa forma, a associação desse conjunto de atividades irá contribuir para uma elevada queda na qualidade das sementes.

Em relação aos lotes armazenados em Leopoldina, pôde ser observado que a germinação máxima para as sementes acondicionadas em embalagem de papel multifoliado ocorreu aos 4,4 meses de armazenamento, com valores de 77% (dado destransformado) e, em embalagem de rafia, aos 4,8 meses de armazenamento, cujo valor foi de 78% (dado destransformado). A partir desses pontos, verifica-se que houve uma tendência de queda acentuada do porcentual de germinação em ambos os tipos de embalagens, embora ligeiramente maior para papel multifoliado, até atingir a perda total da viabilidade das sementes, o que ocorreu antes do final dos 36 meses de armazenamento. Provavelmente, essa queda acentuada no porcentual de germinação, seguida de morte das sementes, deve-se às altas temperaturas registradas durante todo o período de armazenamento (Tabela 6A). A temperatura, como se sabe, influencia consideravelmente todas as atividades biológicas das sementes armazenadas,

podendo, como neste caso, comprometer a viabilidade das sementes armazenadas. Tais observações reforçam às de Abraão (1971) e Baskin (1975), os quais relatam que, para a conservação das sementes, a temperatura representa um dos fatores condicionantes na manutenção da sua viabilidade, principalmente por sua influência na umidade do produto e, conseqüentemente, no seu metabolismo. Com a elevação da temperatura, o processo fisiológico da respiração acelera-se progressivamente, provocando aquecimento das sementes e consumo de reservas nutritivas. Este tipo de comportamento, seguramente, comprometerá a longevidade das sementes. Ficou evidenciado, através dos resultados, que esta região não apresenta condições favoráveis para o armazenamento de sementes de arroz, uma vez que essas não atingiram, em nenhum período, o padrão mínimo de germinação (80%) estabelecido para sementes de arroz pela Comissão Estadual de Sementes e Mudanças de Minas Gerais, CESM-MG (1985).

De uma maneira geral, pode ser visualizado pela Figura 14, que a superação da dormência das sementes apresenta uma tendência linear para os dois tipos de embalagens empregados, nas quatro regiões estudadas. Em Patos de Minas e Janaúba, independente do tipo de embalagem empregado, a dormência foi superada significativamente num menor período de tempo, do que em Lambari e Leopoldina. Apesar das diferenças encontradas, a superação total da dormência das sementes ocorreu antes dos 12 meses de armazenamento, em todas as regiões.

Embora para Jennings e Jesus Júnior (1964) e Bewley e Black (1994), a dormência diminui lentamente com o período de armazenamento, sendo influenciada principalmente pela temperatura, outros fatores devem ser considerados como eliminadores da inibição da germinação das sementes de arroz, ao longo do armazenamento. Dentre estes fatores, destacam-se os compostos fenólicos localizados na casca (glumelas), os quais, restringem a

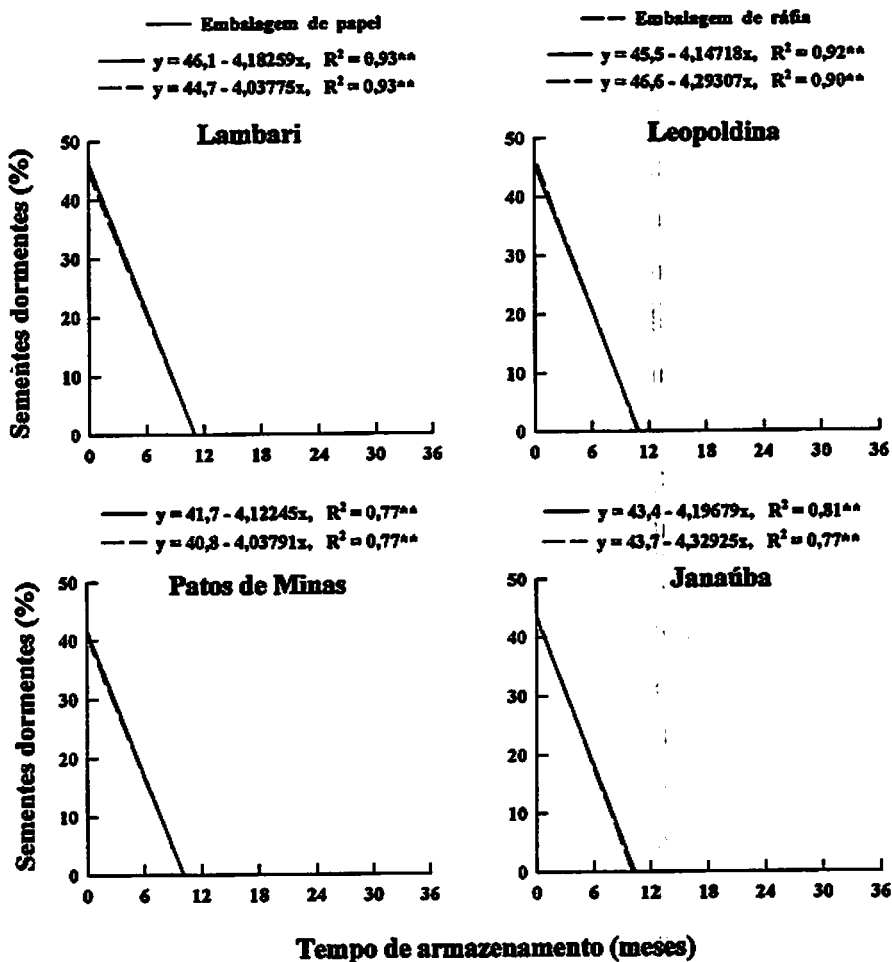


Figura 14 - Estimativa da porcentagem de sementes dormentes de arroz, armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de ráfia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba. UFLA, Lavras - MG, 2000.

entrada de oxigênio na semente (Edwards, 1973; Vieira, 1991). Desse modo, pode-se deduzir que a superação da dormência das sementes de arroz ocorre em função da oxidação desses inibidores, pela ação do oxigênio presente na atmosfera, em conjunto com a temperatura desses ambientes. Tal dedução é reforçada por relatos de Olatoye e Hall (1972), que citam que, quando se utiliza o armazenamento da semente seca por um determinado período, existe a possibilidade de ocorrer a difusão lenta e paulatina de O_2 para o seu interior, determinando a redução gradativa da quantidade de inibidores da germinação, favorecendo desta maneira, a superação da dormência e, conseqüentemente, a sua germinação.

Vale ressaltar ainda que houve uma tendência de comportamento semelhante, na superação da dormência das sementes armazenadas em Lambari e Leopoldina. Porém, observa-se pela Figura 13, que houve uma acentuada redução na germinação das sementes armazenadas em Leopoldina, antes mesmo de atingir a completa superação da dormência. Tal fato provavelmente ocorreu, devido as condições climáticas dessa região, principalmente as elevadas temperaturas registradas ao longo do armazenamento (Tabela 6A). Essas observações estão suportadas pelas de Greg et al. (1970), Delouche et al. (1973), Justice e Bass (1979), Popinigis (1985) e Bewley e Black (1994), os quais mencionam que a temperatura é outro fator do ambiente que influencia na longevidade das sementes durante o seu armazenamento, afetando diretamente a velocidade dos processos bioquímicos. Durante o armazenamento, o aumento da temperatura provoca aceleração na atividade respiratória das sementes e dos fungos que as acompanham, bem como nas atividades dos insetos. Monteiro (1988), pesquisando sobre as condições de armazenamento, relata que, a uma temperatura de $29,5^{\circ}C$ e grau de umidade de 9%, as sementes de feijão mantêm-se viáveis por longos períodos, enquanto que a 14%, não manterão sua viabilidade por tempo superior a três meses.

3.3 Envelhecimento artificial

A Figura 15 apresenta as equações de regressão e os dados ajustados para valores médios de vigor, obtidos pelo teste de envelhecimento artificial em sementes de arroz, ao longo do armazenamento, para as quatro regiões estudadas.

Verifica-se, nesta figura, que o vigor das sementes armazenadas em Lambari, Patos de Minas e Janaúba, apresentou uma tendência de comportamento semelhante à germinação (Figura 13). Em Leopoldina, o decréscimo no vigor foi linear com o tempo de armazenamento, atingindo nível zero aos 30 meses. Para as demais regiões, o teste de vigor pelo método de envelhecimento artificial nos primeiros meses, funcionou como um tratamento para superar a dormência, podendo observar ganhos no percentual de germinação após a execução do referido teste. A partir de 6 meses de armazenamento, nota-se uma queda gradual no nível de vigor, tanto para as sementes armazenadas em Lambari e Patos de Minas, quanto para aquelas armazenadas em Janaúba.

O maior vigor detectado no início do armazenamento pelo teste de envelhecimento artificial, foi para as sementes armazenadas em Lambari, seguida das de Patos de Minas e Janaúba, respectivamente. Entretanto, no decorrer do armazenamento, a deterioração das sementes armazenadas em Lambari foi mais acentuada que nas outras duas regiões. Provavelmente este fato se deveu às altas umidades relativas ocorridas nesta região (Tabela 5A). Esta hipótese é suportada por considerações de Barton (1961), o qual mencionou que as sementes armazenadas sob condições de flutuação de umidade, podem perder a viabilidade mais rapidamente do que as sementes armazenadas em condições de umidade constante.

Sementes armazenadas em Lambari e Janaúba, em embalagem de ráfia, apresentaram tendência de superioridade, enquanto que para Patos de Minas,

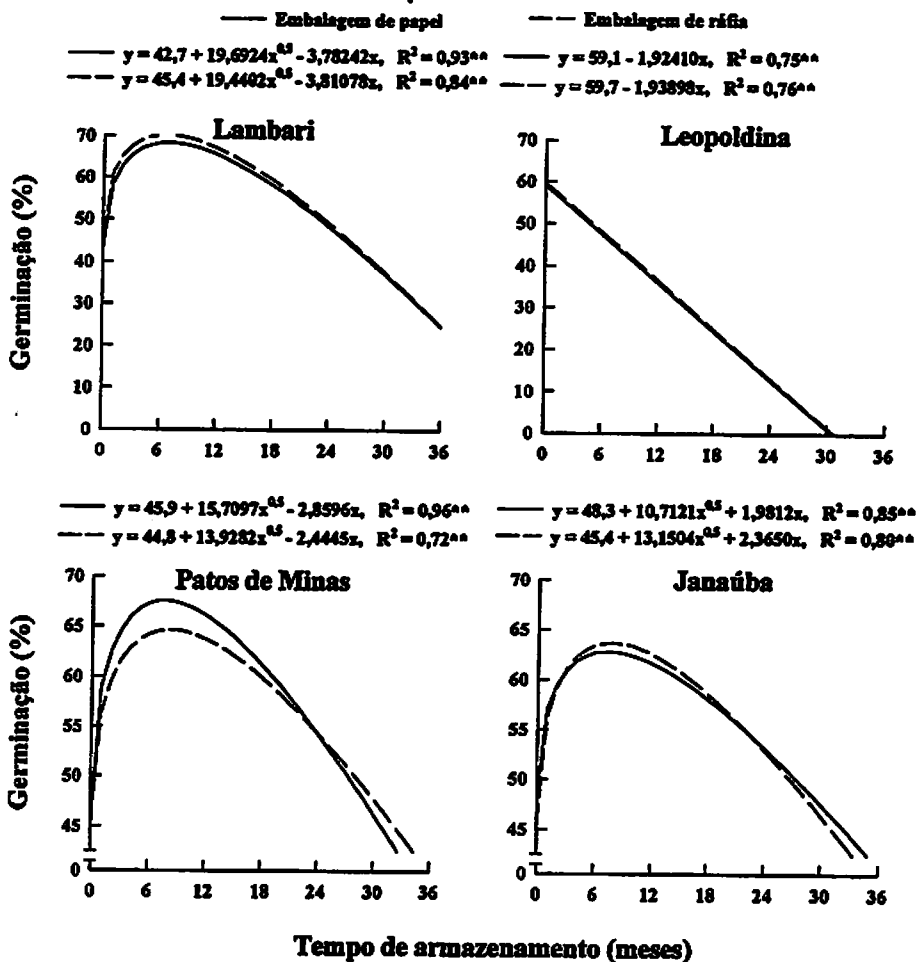


Figura 15 - Estimativa da porcentagem de vigor, obtida pelo teste de envelhecimento artificial em sementes de arroz, armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba. UFLA, Lavras - MG, 2000.

[REDACTED]

este tipo de embalagem propiciou menores valores, até próximo aos 24 meses de armazenamento, quando então apresentaram maiores valores de vigor. Este comportamento provavelmente está associado, além da permeabilidade inerentes às embalagens, à relação existente entre a temperatura e a umidade relativa de cada região, fatores estes que não atuam isoladamente.

Os valores de vigor obtidos pelo teste de envelhecimento artificial, para sementes armazenadas nas quatro regiões estudadas, indicam Patos de Minas e Janaúba, com as melhores condições de armazenamento por períodos prolongados; e Leopoldina, com condições ambientais impróprias para armazenar sementes de arroz. Vale ressaltar que essa tendência também foi detectada pelo teste de germinação (Figura 13).

3.4 Índice de velocidade de emergência

A Figura 16 apresenta as equações de regressão e os dados ajustados para valores médios de vigor, obtidos pelo índice de velocidade de emergência, ao longo do armazenamento, para as quatro regiões estudadas.

Pode ser observado nesta figura, que os resultados obtidos pelo índice de velocidade de emergência, mostraram uma tendência de comportamento semelhante aos resultados detectados pelo teste de germinação (Figura 13). Patos de Minas e Janaúba propiciaram condições às sementes, para que estas apresentassem os maiores níveis de vigor inicial, seguidas de Lambari e Leopoldina. A partir de seis meses, nota-se um decréscimo no nível de vigor das sementes armazenadas em todas as regiões, sendo que, em Leopoldina, o nível de vigor zero foi atingido antes dos 24 meses. Provavelmente, este fato esteja relacionado às temperaturas elevadas ocorridas nesta região durante o período de armazenamento (Tabela 6A). Nas outras regiões, o nível de deterioração das sementes foi mais acentuado em Lambari do que em Patos de Minas, ao longo dos 36 meses de armazenamento. Provavelmente, isto seja devido às altas

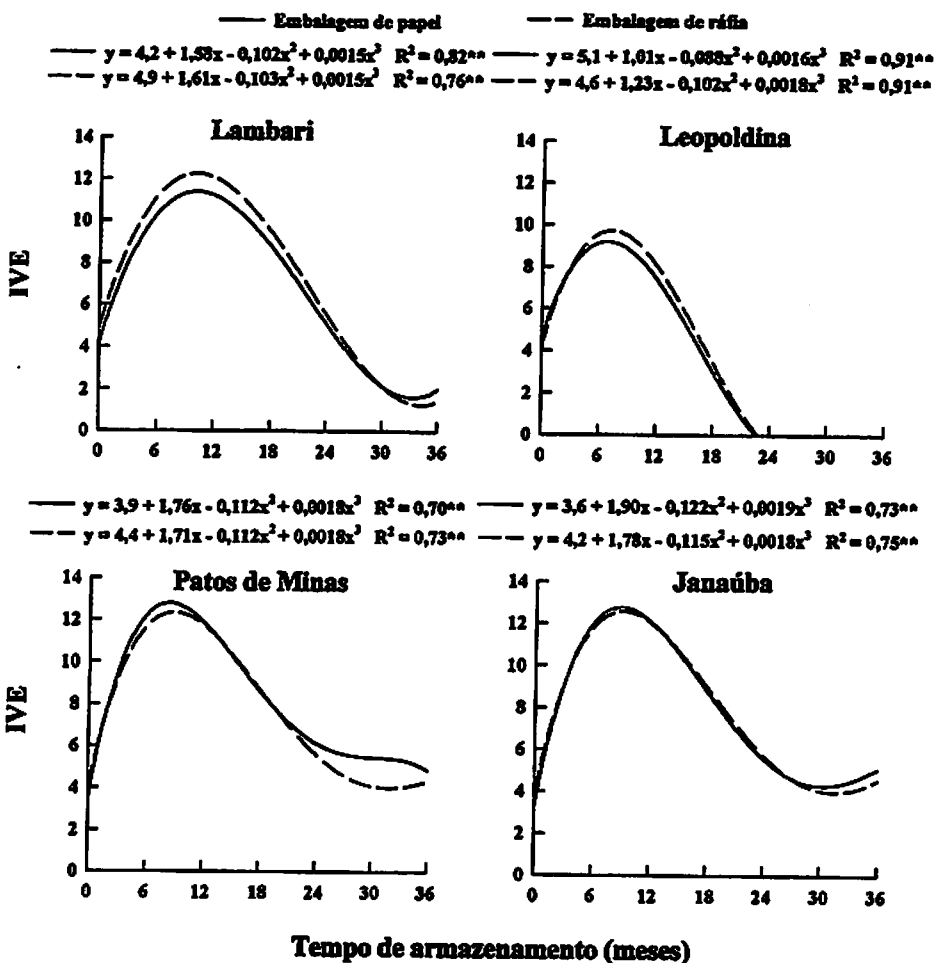


Figura 16 - Estimativa da porcentagem de vigor, obtida pelo índice de velocidade de emergência em sementes de arroz, armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba. UFLA, Lavras - MG, 2000.

umidades relativas (Tabela 5A), característica desta região, como já mencionado no teste de envelhecimento artificial.

Em relação às embalagens, observa-se que, em Lambari e Leopoldina, a embalagem de rafia apresentou tendência de superioridade, enquanto para Patos de Minas e Janaúba, esta tendência foi apresentada pela embalagem de papel multifoliado, até aos 24 meses. Como já mencionado na discussão do teste de envelhecimento artificial, esses resultados devem estar associados à relação entre os fatores embalagem e condições climáticas das regiões, os quais não atuam isoladamente.

3.5 Emergência aos 12 e 21 dias

A Figura 17 e a Figura 18 apresentam as equações de regressão e os dados ajustados para valores médios de vigor, obtidos no teste de emergência, por meio dos estandes aos 12 e 21 dias, respectivamente, para as quatro regiões estudadas.

Observando os resultados da população estabelecida aos 12 dias (Figura 17), constata-se que os resultados apresentam uma tendência de aumento do estande até aproximadamente a metade do período de armazenamento, em Lambari, Patos de Minas e Janaúba. A partir daí, foi detectada uma queda no vigor das sementes, tendo sido mais acentuada em Lambari. Pode ser observado também que, nesta região, a embalagem de rafia mostrou uma tendência de superioridade na preservação do vigor das sementes, até os 24 meses, enquanto em Patos de Minas e Janaúba, esta tendência foi apresentada pela embalagem de papel multifoliado, durante todo o período de armazenamento.

Para Leopoldina, houve uma tendência linear decrescente no vigor das sementes armazenadas em embalagem de papel multifoliado, desde o início do armazenamento; e a perda total da viabilidade destas, ocorreu antes do final dos 36 meses. Nas sementes armazenadas em embalagens de rafia, a queda do vigor

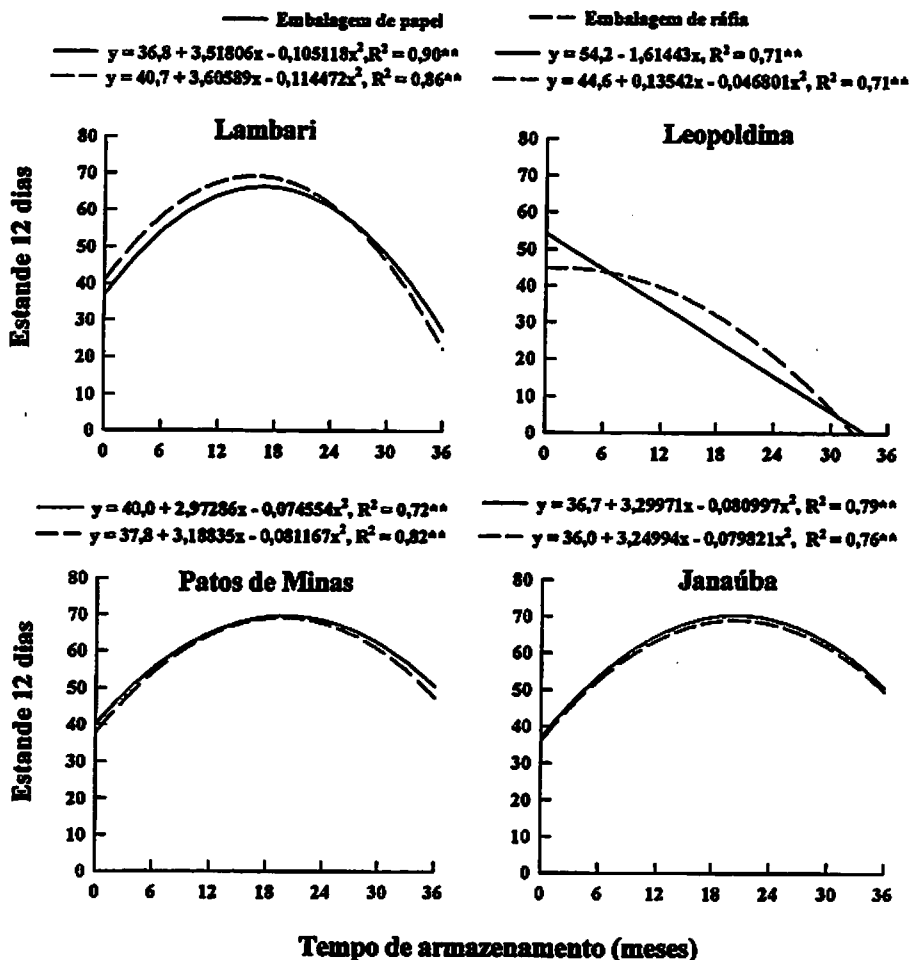


Figura 17 - Estimativa da porcentagem de vigor, obtida no teste de emergência por meio do estande aos 12 dias, em sementes de arroz armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba. UFLA, Lavras - MG, 2000.

foi menos acentuada, porém, as sementes também perderam totalmente a viabilidade, à semelhança daquelas armazenadas em embalagem de papel multifoliado.

Nos resultados da população estabelecida aos 21 dias (Figura 18), observa-se a mesma tendência apresentada pelo estande, aos 12 dias para as sementes armazenadas em Lambari, Patos de Minas e Janaúba. Da mesma forma, o efeito das embalagens em Lambari e Patos de Minas apresentam tendências semelhantes, enquanto em Janaúba, para as sementes armazenadas em embalagem de ráfia, houve tendência de superioridade até aos 12 meses de armazenamento. Entretanto, para Leopoldina, as sementes apresentaram tendência linear de perda do vigor, desde o início do armazenamento até a perda total de viabilidade, o que ocorreu antes do final dos 36 meses, independente da embalagem empregada.

De uma maneira geral, a queda no vigor das sementes, detectada pelo índice de velocidade de emergência e estande aos 12 e 21 dias, foi menos drástica que a detectada pelo teste de envelhecimento artificial. Este fato já era esperado, uma vez que o teste de envelhecimento artificial é realizado em condições de maior estresse. Portanto, para sementes de arroz, o teste de envelhecimento artificial, de acordo com a literatura, é um dos testes mais indicados para avaliar potencial de armazenamento.

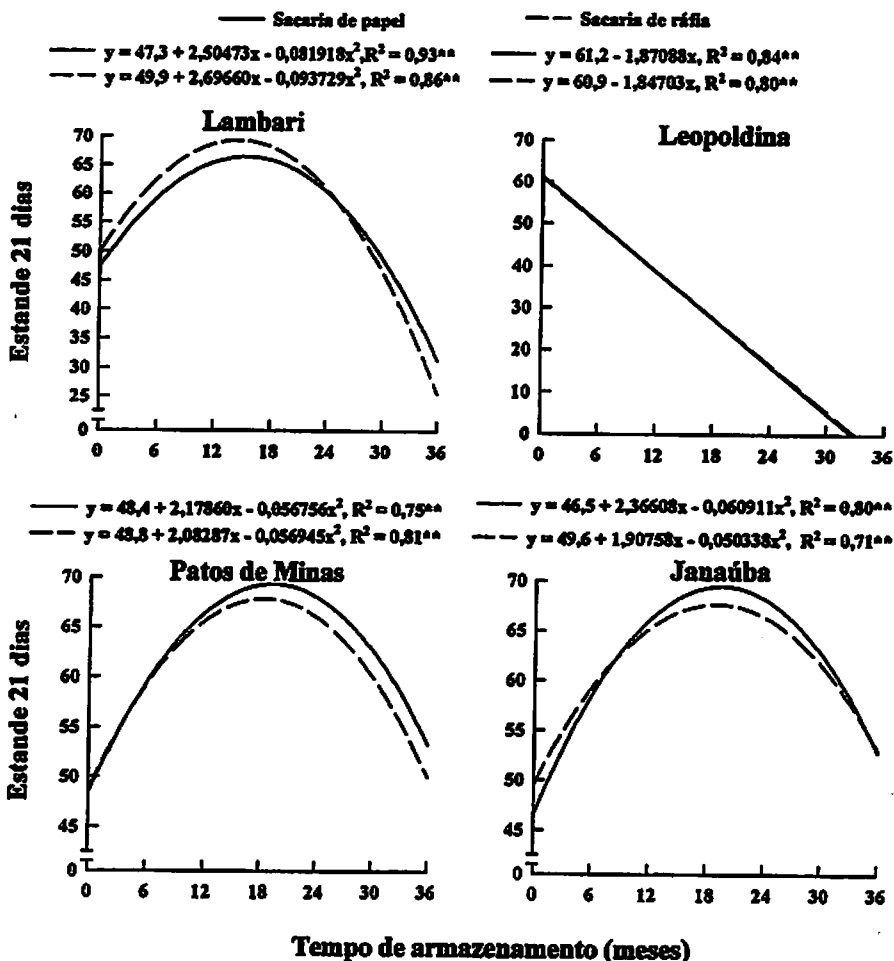


Figura 18 - Estimativa da porcentagem de vigor, obtida no teste de emergência por meio do estande aos 21 dias, em sementes de arroz armazenadas em embalagens de papel multifoliado e de rafia, em armazém convencional por 36 meses, nas regiões Sul de Minas - Lambari, Zona da Mata - Leopoldina, Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba.. UFLA, Lavras - MG, 2000.

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- 1- A superação da dormência das sementes de arroz é influenciada pelas condições de armazenamento, independente da embalagem utilizada;
- 2- As embalagens influenciam na conservação das sementes de arroz, variando em função do local e do período de armazenamento;
- 3- As regiões Alto Paranaíba - Patos de Minas e Norte de Minas - Janaúba, apresentam condições para o armazenamento prolongado de sementes de arroz;
- 4- A região Sul de Minas - Lambari apresenta condições para o armazenamento de sementes de arroz por período de, aproximadamente, 24 meses;
- 5- A região Zona da Mata - Leopoldina não apresenta condições favoráveis para armazenamento de sementes de arroz.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, J.T.M. **Contribuição ao estudo dos efeitos de danificações mecânicas em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Piracicaba, SP: ESALQ, 1971. 112p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes florestais e tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. 350p.

- BARTON, L.V.** Seed preservation and longevity. London: Leonard Hill Books, 1961. 216p.
- BASKIN, C.C.** Seed storage: biological aspects. In: **SHORT COURSE FOR SEEDSMEN**, 17., 1975, Mississippi. **Proceedings...** Mississippi: Mississippi State University, 1975. p.77-80.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C.** Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego: Academic Press, 1998. 666p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M.** Seeds: physiology of development and germination. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BRASIL.** Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília, 1992. 365p.
- CANEPELLE, M.A.B.** Influência da embalagem, do ambiente e do período de armazenamento na qualidade de sementes de cebola (*Allium cepa*). Viçosa, MG: UFV, 1994. 80p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J.** Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.
- COMISSÃO ESTADUAL DE SEMENTES E MUDAS DE MINAS GERAIS.** Normas, padrões e procedimentos para a produção de sementes básicas, certificadas e fiscalizadas. 2.ed. Belo Horizonte, 1985. 110p.
- CONDÉ, A. dos R.; GARCIA, J.** Armazenamento e embalagens de sementes de forrageira. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.10, n.111, p.44-49, mar. 1984.
- DELOUCHE, J.C.; MATTHES, R.K.; DOUGHERT, G.M.; BOYD, A.H.** Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.3, p.671-700, 1973.
- DELOUCHE, J.C.; WELCH, G.B.** Conditioned storage of seed. In: **SHORT COURSE FOR SEEDSMEN**, 23., 1975, Mississippi. **Proceedings...** Mississippi: Mississippi State University, 1975. p.56-75.
- EDWARDS, M.M.** Seed Dormancy and seed environment-internal oxigen relationship. In: **HEYDECKER, W. (ed) Seed ecology.** Miyage-ken: The Pennsylvania State University Press/ University Park, 1973. p.169-188.

- FRANCO, D.F.; PETRINI, J.A.; RODO, A.; OLIVEIRA, A.; TAVARES, W.R.F. Métodos para superar a dormência em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.7, n. 1/2, p.118, 1997. (Resumos do Congresso Brasileiro de Sementes, 10, 1997, Foz do Iguaçu).
- GREG, B.R.; LAW, A.G.; VIRDI, S.S.; BALIS, J.S. **Seed processing**. Nova Delhi, 1970. 396p.
- HALL, G.E. Damage during handling of shelled corn and soybeans. **Transactions of the ASAE**, Michigan, v.17, n.2, p.335-338, Mar./Apr. 1974.
- HARRINGTON, J.F. Drying, storage and packaging: present status and future needs. In: **SHORT COURSE FOR SEEDSMEN**, 14., 1971, Mississippi. **Proceedings...** Mississipi: Mississipi State University, 1971. p.133-139.
- JENNINGS, P.R.; JESUS JÚNIOR, J. Effect of heat on breaking seed dormancy in rice. **Crop Science**, Madison, v.4, n.5, p.530-533, Sept./Oct. 1964.
- JUSTICE, O.L.; BASS, L.N. **Principles and practices of seed storage**. Castle: USDA, 1979. 289 p.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENING, A.A. O teste de vigor. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.1, n.2, p.15-37, mar. 1991.
- MACEDO, E. de C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1/2, p.454-461, jan./dez. 1998.
- MAGUIRRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evolution for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, Mar./Apr. 1962.
- MARCOS FILHO, J. Fatores que afetam a conservação. **A sementes**, São Paulo, v.16, n.1, p.3-4, jun. 1976.
- MONTEIRO, M.R. **Conservação de sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.): cultivo e produção de sementes**. Jaboticabal: UNESP-FCAV, 1988. 60p.
- OLATOYE, S.T.; HALL, M.A. Interaction of ethylene and light on dormant weed seeds. In: HEYDECKER, W. (ed). **Seed ecology**. Norwich, Englan: Pennsylvania State University, 1972. p.233-249.

- POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. 2.ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289p.**
- TOOLE, V.K. Effects of light, temperature and their interations on the germination on seeds. Seed Science and Technology, Norway, v.1, n.2, p.339-396, 1973.**
- VIEIRA, A.R. Efeitos de compostos fenólicos na dormência de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e eficiência de tratamentos pré-germinativos. Lavras: ESAL, 1991. 58p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).**
- VIEIRA, A.R.; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, V.D. de; FRAGA, A.C. Efeitos de tratamentos pré-germinativos na superação da dormência de sementes de arroz e na atividade enzimática da peroxidase. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.29, n.4, p.535-542, abr.1994.**

ANEXOS

	Página
TABELA 1A Resumo da análise de variância para os resultados do teste de germinação e de sementes dormentes. UFLA, Lavras-MG, 2000.	111
TABELA 2A Resumo da análise de variância para os resultados de grau de umidade, teste de germinação e de sementes dormentes. UFLA, Lavras-MG, 2000.	111
TABELA 3A Resumo da análise de variância para os resultados de grau de umidade, teste de germinação, sementes dormentes, envelhecimento artificial, índice de velocidade de emergência, estande aos 12 e aos 21 dias. UFLA, Lavras-MG, 2000.	112
TABELA 4A Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de maio/97 a abril/98, nas UBS do Departamento de Agricultura da UFLA, Lavras-MG, e da Agroceres, Patos de Minas-MG.	113
TABELA 5A Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Lambari-MG.	114

TABELA 6A Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Leopoldina-MG. 115

TABELA 7A Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Patos de Minas-MG. 116

TABELA 8A Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Janaúba-MG. 117

Tabela 1A - Resumo da análise de variância para os resultados do teste de germinação e de sementes dormentes. UFLA, Lavras-MG, 2000.

QUADRADOS MEDIOS		FONTE DE VARIACÃO	
GL	Germinação	GL	Concentração G_{a_3}
	Sementes Dormentes	3	0,1473**
		2	0,0973**
		6	0,0090**
		1	0,6778**
		1	0,0403**
		1	0,4557**
		42	0,0010
			8,24%
			Resíduo
			CVs

** Significativo a 1% pelo teste de F.

Tabela 2A - Resumo da análise de variância para os resultados de grau de unidade, teste de germinação e de sementes dormentes. UFLA, Lavras-MG, 2000.

QUADRADOS MEDIOS		FONTE DE VARIACÃO	
GL	Umidade	GL	Local armazenamento
	Sementes	1	3,3620**
	Dormentes	1	31,2500**
		1	4,3245**
		12	0,0046
		4	8,9728**
		4	0,2161**
		4	1,9947**
		4	0,2770**
		48	0,0087
			Resíduo (b)
			CVs a
			0,60
			3,78
			8,37
			7,96
			CVs b

** Significativo a 1% pelo teste de F.

* Significativo a 5% pelo teste de F.

Tabela 3A - Resulto da análise de variância para os resultados de grau de umidade, teste de germinação, sementes dormentes, envelhecimento artificial, índice de velocidade de emergência, estando aos 12 e aos 21 dias. UFLA, Lavras-MG, 2000.

FONTES DE VARIACÃO		GL	Uml	Ger.	S.D.	E.A.	I.V.E.	E.I2	E.I1
Local	3	22,4396**	15,178,6867**	40,9686**	10,828,6203**	181,3705**	13,546,5543**	13,718,0658**	
Embalagem	1	0,1661**	14,4878*	0,8296	0,8234	0,8028	6,5795	3,3330	
Loc. x Emb.	3	0,0975**	1,4300	0,3020	9,8276*	0,7032	19,2171	9,9104	
Resíduo (a)	24	0,0070	11,2500	2,0715	7,8726	0,3112	7,3836	6,9151	
Epoca	6	5,9563**	7,735,8225**	11,126,0558**	6,993,8613**	522,1244**	5,548,7285**	4,077,0064**	
Epoca x Loc.	18	1,6059**	1,733,3030**	40,9863**	1,212,9371**	14,8924**	1,441,3549**	1,495,2276**	
Epoca x Emb.	6	0,0706**	36,7866**	1,2219	57,7416**	0,9170**	28,7744**	36,0553**	
Epoca x Loc. x Emb.	18	0,0380**	8,8083*	21,6242**	20,6822**	0,5418*	19,1566**	18,6181*	
Resíduo (b)	144	0,0083	4,6937	1,4170	5,0001	0,3003	10,9908	10,0669	
Cvs a	0,70	6,30	17,60	6,18	9,12	5,65	5,18		
Cvs b	0,76	4,07	14,56	4,93	8,96	6,89	6,26		

** Significativo a 1% pelo teste de F.

* Significativo a 5% pelo teste de F.

Tabela-4A - Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de maio/97 a abril/98, nas UBS do Departamento de Agricultura da UFLA, Lavras-MG e da Agroceres, Patos de Minas-MG.

ANO	MÊS	LAVRAS		PATOS DE MINAS	
		TEMP.	UMID.	TEMP.	UMID.
1997	Maio	18,8	73,0	21,2	62,8
	Junho	17,8	71,5	18,8	66,8
	Julho	20,0	64,8	19,8	54,0
	Agosto	21,8	56,2	20,9	48,0
	Setembro	25,4	61,7	26,0	49,5
	Outubro	25,9	61,7	26,5	55,6
	Novembro	26,3	69,5	26,3	57,0
	Dezembro	26,3	69,4	25,3	73,5
1998	Janeiro	26,4	71,0	25,9	74,4
	Fevereiro	26,6	71,2	27,5	74,8
	Março	26,4	69,8	28,2	70,2
	Abril	24,5	71,7	27,4	70,5

Tabela 5A - Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Lambari-MG.

ANO	Condições climáticas	Mês											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1994	Temp.						15,4	13,3	15,2	18,6	21,4	21,3	22,3
	Umid.						84,8	65,8	73,0	65,0	72,0	76,0	76,8
1995	Temp.	22,8	21,7	21,0	18,8	16,4	13,4	18,5	16,4	18,2	19,2	20,2	21,8
	Umid.	80,0	88,0	83,0	84,0	87,5	90,0	84,0	86,0	80,0	83,0	81,0	82,0
1996	Temp.	23,6	24,2	23,2	20,5	16,7	14,8	14,7	16,4	18,8	21,2	21,5	23,3
	Umid.	79,3	81,0	84,7	83,0	88,0	91,7	92,0	91,0	92,3	91,0	90,0	88,3
1997	Temp.	22,6	23,4	21,5	19,2	16,6							
	Umid.	98,7	87,3	83,0	83,0	87,8							

Tabela 6A - Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/96, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Leopoldina-MG.

ANO	Condições climáticas	Mês											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1994	Temp.						27,2	26,8	27,0	29,3	31,7	32,4	33,6
	Umid.						65,3	62,5	64,0	66,3	68,4	68,3	67,1
1995	Temp.	31,7	32,7	32,9	29,9	27,8	27,1	28,2	30,4	30,3	30,2	30,7	30,9
	Umid.	72,4	71,0	72,1	69,1	68,1	64,5	62,0	66,8	69,5	69,2	68,9	72,8
1996	Temp.	32,4	33,6	32,7	29,4	28,1							
	Umid.	72,0	74,0	73,2	74,5	69,9							

Tabela 7A - Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Patos de Minas-MG.

ANO	Condições climáticas	Mês											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1994	Temp.						17,9	18,4	18,6	23,5	24,1	22,6	22,0
	Umid.						68,0	64,3	50,3	45,9	58,3	67,9	65,0
1995	Temp.	23,3	22,5	22,7	21,7	20,4	18,6	20,2	27,6	28,1	28,9	27,2	28,0
	Umid.	69,0	70,0	71,0	69,0	68,0	66,0	63,0	51,0	57,0	66,0	77,0	76,0
1996	Temp.	23,2	23,2	22,7	21,5	19,5	18,1	19,1	20,6	21,8	23,2	21,8	22,4
	Umid.	74,0	79,0	76,0	72,0	72,0	63,0	56,0	55,0	63,0	68,0	77,0	82,0
1997	Temp.	22,0	22,6	21,2	20,6	18,8							
	Umid.	75,0	76,0	74,0	78,0	75,0							

Tabela 8A - Médias mensais de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) dos meses de junho/94 a maio/97, no armazém de sementes da Fazenda Experimental da EPAMIG em Janaúba-MG.

ANO	Condições climáticas	Mês											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1994	Temp.						23,5	23,0	23,6	25,9	27,1	25,7	25,2
	Umid.						69,0	62,0	61,0	55,0	61,0	69,0	69,0
1995	Temp.	28,0	27,0	28,0	25,9	26,1	24,8	23,0	23,6	25,9	27,1	25,7	25,2
	Umid.	62,0	70,0	62,0	69,0	61,0	64,0	62,0	61,0	55,0	61,0	69,0	68,0
1996	Temp.	25,8	26,8	28,2	26,4	25,0	23,6	23,2	24,5	26,5	26,9	25,8	25,1
	Umid.	67,0	64,0	65,0	58,0	53,0	55,0	61,0	59,0	46,0	56,0	71,0	72,0
1997	Temp.	26,1	24,3	25,2	26,0	23,4	24,8						
	Umid.	70,0	60,0	76,0	74,0	69,0	63,0						