

VIGOR DE SEMENTES DE ARROZ AVALIADAS PELO TESTE DO ETANOL

RICE SEEDS VIGOR ASSESSED BY ETHANOL TEST

Jerffeson Araujo Cavalcante¹, Ricardo Miotto Ternus², Fernanda Reolon³, Matheus Gatto⁴,
Nicolas Bonato⁵, Gizele Ingrid Gadotti⁶, Dario Munt Moraes⁷

RESUMO: O desenvolvimento de testes para a avaliação do vigor em sementes, bem como a padronização destes, é essencial para a constituição de um eficiente controle de qualidade, devendo ser cada vez mais eficientes, além de incluir testes que avaliem rapidamente o potencial fisiológico e que permitam diferenciação precisa entre lotes. Um método promissor, capaz de diferenciar lotes com distintos níveis de vigor, é o teste de etanol. Assim, objetivou-se avaliar o potencial fisiológico de lotes de sementes de arroz pelo teste do etanol. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições para cada lote. Foram utilizados 5 lotes de sementes de arroz anual cultivar BRS Pampa. Para o testes do etanol, 25 de sementes de arroz foram pesadas e acondicionadas em garrafas de polietileno contendo 60 ml de água destilada durante um período de 24 horas, a uma temperatura controlada de 40 °C. A quantidade de etanol foi quantificada com auxílio de um etilômetro adaptado, sendo os resultados expressos em mg L⁻¹. Os resultados obtidos no teste do etanol foram comparados com o teste de germinação, primeira contagem de germinação e emergência de plântulas. O teste do etanol pode ser utilizado para a determinação do vigor de sementes de arroz, uma vez que, permite a obtenção de dados precisos em um menor intervalo de tempo, dados estes que condizem com os resultados obtidos nos testes convencionais de viabilidade e vigor de sementes.

Palavras-Chave: *Oryza sativa* L., qualidade fisiológica, controle de qualidade.

ABSTRACT: *The development of vigor tests, as well as the standardization of these tests, is essential for the establishment of an efficient quality control, as well as include tests that rapidly evaluate the physiological potential and allow differentiate among lots. The ethanol test is a promising method, capable of differentiating lots with different vigor levels. The objective of this study was to evaluate the physiological potential of rice seed lots by the ethanol test. The experimental model used was a completely randomized design with five replications for each lot. Five lots of annual rice seed cultivar BRS Pampa were used. For ethanol testing, 25 rice seeds were weighed and packed in polyethylene bottles containing 60 mL of distilled water over a period of 24 h at 40 °C. The amount of ethanol was quantified with the aid of an adapted ethylometer, the results being expressed in mg L⁻¹.*

¹Doutorando no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/ Universidade Federal de Pelotas

²Prof. Msc. Da Universidade Barriga Verde – UNIBAVE

³Programa de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Pelotas

^{4,5}Graduando em Agronomia pela Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/ Universidade Federal de Pelotas

⁶Prof. Dr^a. Do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes pela UFPel

⁷Prof. Dr. Do Programa de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal pela UFPel

The results obtained in the ethanol test were compared to the germination test, first germination count and seedling emergence. The ethanol test can be used to determine the rice seeds vigor since it allows accurate data in a shorter period of the time. These results are similar to those obtained by conventional tests of viability and vigor.

Key-words: *Oryza sativa L., physiological quality, quality control.*

INTRODUÇÃO

O arroz está economicamente entre as culturas mais importantes do Brasil, por isso justifica-se a busca de tecnologias para melhorar o desempenho das sementes em campo. Nos últimos anos, a tecnologia de sementes tem avançado progressivamente e o potencial fisiológico, impulsionado pelos avanços tecnológicos influenciados pela pesquisa, segue o mesmo andamento (NUNES et al., 2014).

A sensibilidade de sementes viáveis as adversidades do campo são aumentadas pelo seu grau de deterioração, resultando distorções interpretativas dos resultados obtidos na avaliação do potencial fisiológico. Portanto, o reconhecimento dos testes de vigor que melhor predizem o desempenho em campo possibilita o entendimento da real influência sobre o comportamento após a semeadura (WENDT et al., 2017).

Os testes de vigor são mais sensíveis para identificar estágios menos avançados de deterioração das sementes, podendo facilitar a tomada de decisões sobre o destino dos lotes de sementes. Uma das limitações dos testes de vigor está relacionada com o tempo necessário para execução e a subjetividade na sua avaliação (PINTO et al., 2015).

O emprego de testes rápidos em programas de controle de qualidade de sementes é ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes, e por isso tem merecido permanente atenção dos tecnologistas, produtores e pesquisadores (DEMINICIS et al., 2009).

Visando a obtenção de resultados mais rápidos, tem-se buscado e aprimorado testes que permitam o conhecimento rápido e eficiente do vigor da semente, estimando a capacidade de armazenamento e emergência das plântulas em campo (MENDES et al., 2010). Dentre eles destaca-se o teste do etanol, o qual apresentou resultados promissores na classificação de lotes de sementes de repolho de alto e baixo vigor (BUCKLEY; HUANG, 2011).

O teste do etanol baseia-se na teoria da fermentação alcoólica onde as duas enzimas descarboxilase do piruvato e desidrogenase do álcool agem sobre o piruvato, produzindo etanol e CO₂ e oxidando NADH no processo. A desidrogenase do álcool e a desidrogenase do lactato são essenciais para operar o ciclo glicolítico sobre condições anaeróbicas, porque elas reciclam NAD⁺, reduzindo piruvato a etanol e lactato, respectivamente. Esse processo de acúmulo de etanol envolve a oxidação do NADH e resulta em pequena, mas essencial, produção de ATP para a sobrevivência de algumas espécies durante a ausência de oxigênio. Durante as primeiras horas da germinação, as sementes são impermeáveis ao oxigênio, logo, as mesmas rapidamente geram um aumento no coeficiente respiratório e aumenta a atividade da desidrogenase do álcool e ativa a fermentação alcoólica (TAIZ et al., 2017).

Por tanto, visando atender essa expectativa acerca do teste do etanol em sementes de arroz, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o vigor de sementes de arroz pelo teste de etanol comparando com os resultados de outros testes de vigor.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório Didático de Análise de Semente da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS. Foram utilizados 5 lotes de sementes de arroz da cultivar BRS Pampa, obtidas na safra agrícola de 2015/2016. Inicialmente, foi determinado o teor de água das sementes de arroz de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para o teste do etanol, as sementes foram submetidas a 24 horas de embebição em garrafas PET hermeticamente fechadas contendo 60 ml de água destilada. Posteriormente, a quantidade de etanol produzida pelas sementes foi determinada com auxílio de um etilômetro INSTRUTHERM BFD-60 adaptado, sendo os resultados expressos em mg L⁻¹.

Para a comparação dos resultados obtidos no teste do etanol, foram realizadas as seguintes avaliações:

Teste de Germinação (G): conduzido com cinco repetições de 50 sementes para cada unidade experimental, utilizando como substrato rolos de papel “germitest” umedecido previamente com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel

seco, os quais foram colocados em germinadores à temperatura de 25 °C. A contagem foi realizada aos cinco dias após a semeadura, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira Contagem da Germinação (PCG): conduzido em conjunto com o teste de germinação, sendo a avaliação feita aos cinco dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Emergência à campo (EC): para esta determinação foram semeadas 200 sementes por tratamento, distribuídas em cinco repetições de 50 sementes. A avaliação foi realizada em contagem única aos 21 dias após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem.

Empregou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições para cada tratamento. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e havendo significância para o teste F foi realizada análise complementar por comparação de médias, pelo teste de Tukey a 5 %. Também foi realizado uma análise de correlação de Pearson entre os componentes principais a 5%. Para a realização das análises estatísticas utilizou-se o software R[®], versão 2.15 (R CORE TEAM, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao teor de água inicial das sementes apresentaram similaridade entre os cinco lotes de sementes estudados (Tabela 1), variando de 12,3 a 14,1%. Esse fato é importante para execução do teste do etanol e demais testes de vigor, pois, de acordo com Tunes et al. (2011), quando o teor de água das sementes é relativamente baixo, é permitida uma maior confiabilidade aos resultados obtidos nos testes de qualidade fisiológica.

Tabela 1. Teor de água de diferentes lotes de sementes de arroz da cultivar BRS Pampa

Lotes	Grau de umidade (%)
1	13,8
2	12,3
3	14,1
4	12,9
5	12,6

Na avaliação inicial da qualidade fisiológica (Tabela 2), quando foi empregado o teste de germinação, constatou-se que os lotes de sementes de arroz estavam acima do padrão de comercialização, que é de 80% (BRASIL, 2013). Constatou também que não houve diferenças no percentual de germinação entre os diferentes lotes, justificando-se assim, a utilização de testes de vigor.

Para Marcos Filho (2015), o teste de germinação não permite detectar o progresso da deterioração das sementes, indicando apenas os estádios finais do processo. Entretanto, quando foram empregados os testes de vigor, como o de primeira contagem de germinação, observou-se que este distinguiu os lotes de sementes de arroz em dois níveis de vigor, sendo o lote 3 e 5 inferiores aos demais lotes, que por sua vez não diferiram entre si. Segundo Medeiros et al. (2014), a primeira contagem do teste de germinação, muitas vezes, expressa melhor as diferenças de velocidade de germinação entre lotes do que os índices de velocidade de germinação. Ainda, segundo os mesmos autores, trata-se de uma avaliação menos trabalhosa que o de velocidade de germinação, além de ser conduzida simultaneamente com o teste de germinação.

Os lotes 1 e 2, quando avaliados pela emergência de plântulas em campo, foram mais vigorosos do que os lotes 3, 4 e 5, sendo os lotes 4 e 5 os menos vigorosos. Estes resultados não coincidem com aqueles observados na germinação e primeira contagem de germinação, sendo um teste mais criterioso já que este teste se assemelha com as condições reais de campo, na qual as sementes serão submetidas (Tabela 2). Segundo Marcos Filho (1999), o teste de emergência de plântulas em campo constitui parâmetro indicador da eficiência dos testes para avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes.

Dentre os testes de vigor avaliados, o teste do etanol foi o que melhor estratificou os lotes de sementes de arroz em diferentes níveis de vigor, mostrando-se mais criterioso que os demais testes avaliados, principalmente frente ao teste de emergência em campo, que estratificou os lotes em três níveis de vigor e o teste do etanol em quatro níveis (Tabela 2).

No teste do etanol, constatou-se que as sementes do lote 1 apresentou a menor liberação de etanol, já as sementes dos lotes 3 e 5 foram as que mais liberaram etanol, sendo considerada as sementes de menor vigor mediante este teste (Tabela 2). Vale destacar que, nas condições em que foram realizados o teste do etanol neste trabalho, esperava-se que as sementes menos vigorosas liberassem mais etanol que as sementes mais vigorosas durante a anaerobiose.

Moncaleano-Escandon et al. (2013) afirmam que sementes de alto vigor matem estruturada suas membranas celulares, dificultando a entrada e saída de solutos, provenientes da alta seletividade das membranas. Nesse contexto, as sementes menos vigorosas tendem a apresentar membranas com integridade, facilitando assim a saída do etanol de formar mais rápida quando comparado com as sementes mais vigorosas. Acredita-se que o etanol seja o produto final menos tóxico da fermentação, pois ele pode se difundir para fora da célula, enquanto o lactato se acumula e promove a acidificação do citosol (TAIZ et al., 2017).

Tabela 2. Germinação, primeira contagem de germinação (PCG), emergência de plântulas e teste do etanol de diferentes lotes de sementes de arroz da cultivar BRS Pampa

LOTES	Germinação (%)	PCG (%)	EP (%)	Etanol (mg L ⁻¹)
1	92 a ¹	87 a	85 ab	0,209 c
2	93 a	89 a	88 a	0,154 a
3	89 a	80 b	75 c	0,398 d
4	92 a	87 a	81 b	0,276 b
5	90 a	81 b	78 c	0,357 d
CV (%)	3,6	7,8	12,4	15,1

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% (p≤0,05) de probabilidade.

Na Tabela 3, a germinação apresentou correlação negativa (p≤0,05) com o teste do etanol e correlação positiva (p≤0,05) para a primeira contagem da germinação emergência. A primeira contagem de germinação e a emergência de plântulas foram correlacionadas negativamente (p≤0,05) com a produção de etanol, e positivamente com os demais testes (p≤0,05).

Ainda na Tabela 3, constatou-se alta correlação negativa ($p \leq 0,05$) do etanol com todas as demais variáveis analisadas, constatando que, a medida em que a quantidade de etanol liberada pela semente aumentava, observava-se que menor era a qualidade das sementes. Segundo Copeland e McDonald (1995), o grau de deterioração das sementes está associado com a concentração de exsudatos das sementes na solução, e estes são o reflexo da degradação das membranas. Buckley e Huang (2011) avigora que a produção de etanol pela semente é iniciada, ou reforçada, pela perda da integridade da membrana mitocondrial na ausência de O_2 . Quando as mitocôndrias se tornam não funcionais, é necessário um mecanismo alternativo de regeneração de NAD^+ . Este é fornecido pela conversão de piruvato em etanol ou ácido láctico durante a fermentação.

Tabela 3. Análise de correlação de Pearson entre os componentes principais da germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas e teste do etanol de sementes de arroz da cultivar BRS Pampa

Variáveis	Germinação (%)	PCG (%)	EP (%)	Etanol ($mg L^{-1}$)
Germinação (%)	0	0,81*	0,80*	-0,89*
PCG (%)		0	0,91*	-0,90*
EP (%)			0	-0,92*
Etanol ($mg L^{-1}$)				0

* Significativo a 5 % ($p \leq 0,05$) de probabilidade de erro pelo teste Pearson.

O efeito prático do estudo em questão corrobora com as constatações realizadas por Kood et al. (2012), propondo uma quantificação com aparelhos de análise simples e com efeitos práticos, como observado em seu trabalho, com sementes de *Brassica oleraceae* L., onde a variação na qualidade das sementes pode ser analisada pela medição da produção de etanol com um bafômetro portátil (BUCKLEY et al., 2009; BUCKLEY; HUANG, 2011).

CONCLUSÃO

O teste do etanol pode ser utilizado para a determinação do vigor de sementes de arroz, uma vez que, permite a obtenção de dados precisos em um menor intervalo de tempo, condizendo com os resultados obtidos nos testes convencionais de viabilidade e vigor de sementes.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. **Padrões para produção e comercialização de sementes de arroz**. Instrução normativa n.45, de 17 de dezembro de 2013. Diário Oficial da União, sec.1, p. 4-5. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- BUCKLEY, W. T.; BUCKLEY, K. E. Weight volatile indicators of canola seed deterioration. **Seed Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 676-690, 2009.
- BUCKLEY, W. T.; HUANG, J. A. Fast ethanol assay to detect seed deterioration. **Seed Science Research**, v. 39, n. 2, p. 510-526, 2011.
- Copeland, L. O.; McDonald, M. B. **Seed Science and Technology**. (Ed). New York: Chapman & Hall, 1995, 453p.
- DEMINICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Clitoria ternatea* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 54-62, 2009.
- KODDE, J.; BUCKLEY, W. T.; GROOT, C. C.; RETIERE, M.; ZAMORA, A. M.; GROOT, S. P. C. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. **Seed Science Research**, v. 22, n. 2, p. 55-62, 2012.
- MARCOS FILHO, J. **Testes de vigor: importância e utilização**. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-21.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 659 p
- MEDEIROS, M. A.; TORRES, S. B.; NEGREIROS, M. Z.; MADALENA, J. A. S. Testes de estresse térmico em sementes de melão. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 7-13, 2014.
- MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. D.; DIAS, L. A. S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 114-120, 2010.
- MONCALEANO-ESCANDON, J.; SILVA, B. C. F.; SILVA, S. R. S.; GRANJA, J. A. A.; ALVES, M. C. J. L.; POMPELLI, M. F. (2013). Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. **Industrial Crops and Products**, v. 44, v. 1, p. 684-690, 2013.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, p.9-13.

NUNES, R. T. C.; UBIRATAN, O. S.; OTONIEL, M. M.; CAÍQUE, M. S. L. Análise de imagens na avaliação da qualidade fisiológica de sementes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.9, n.5, p.84-90, 2014.

PINTO, C. A. G.; CARVALHO, M. L. M.; ANDRADE, D. B.; LEITE, E. R.; CHALFOUNS, I. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 2, p. 319-328, 2015.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014. URL <http://www.R-project.org/>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TUNES, L. M.; PEDROSO, D. C.; BARBIERI, A. A. P.; CONCEIÇÃO, G. M.; ROETHING, E.; MUNIZ, M. F. B.; BARROS, A. C. S. A. Envelhecimento acelerado modificado para sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e sua correlação com outros testes de vigor. **Revista Brasileira Biociências**. v. 9, n. 2, p.12-17, 2011.

WENDT, L.; MALAVASI, M. M.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; GOMES JUNIOR, F. G. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 2, p. 166-171, 2017.