

ENVELHECIMENTO ACELERADO EM SEMENTES DE BRÓCOLIS (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck)

ACCELERATED AGING OF BROCCOLI SEEDS (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck)

Lilian Madruga de TUNES¹; Lizandro Ciciliano TAVARES²; Cassyo de Araújo RUFINO²; Antonio Carlos Souza Albuquerque BARROS³; Marlove Fátima Brião MUNIZ⁴; Veronica Brasil DUARTE⁵

1. Engenheira Agrônoma, Doutoranda em Agronomia, Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. lilianmtunes@yahoo.com.br 2. Engenheiro Agrônomo, Doutorando em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas - UFPel. 3. Professor Associado, Departamento de Fitotecnia - UFPel, Bolsista de Produtividade em Pesquisa - CNPQ, FAEM, Pelotas, RS, Brasil. 4. Professora, Doutora, Departamento de Defesa Fitossanitária - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. 5. Laboratorista do Departamento de Fitotecnia FAEM -UFPel, Laboratório de Análise de Sementes, Pelotas, RS, Brasil.

RESUMO: O presente trabalho teve por objetivo determinar a metodologia do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de brócolis, bem como, verificar a possibilidade do uso de solução contendo NaCl como alternativa para controle da absorção de água pelas sementes durante a realização do teste, sem reduzir sua sensibilidade. Foram utilizados quatro lotes de sementes, submetidos aos testes de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e envelhecimento acelerado, empregando-se os períodos de exposição de 48, 72 e 96 h, com e sem o uso de solução salina de NaCl. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4 (quatro tempos de exposição e quatro lotes de sementes), com quatro repetições. A utilização de solução salina saturada ou não de NaCl diminuiu a absorção de água pelas sementes de brócolis durante o teste de envelhecimento acelerado, acarretando uma taxa de deterioração menos acentuada e resultados menos drásticos e mais uniformes. A exposição por um período de 48 h é uma opção promissora para a avaliação do potencial fisiológico das sementes.

PALAVRAS-CHAVE: Solução salina. Germinação. Vigor. Hortaliça. Qualidade fisiológica.

INTRODUÇÃO

A procura por uma alimentação mais saudável e nutritiva tem levado a incrementos no consumo de hortaliças no país, estimulando o setor produtivo e aumentando a exigência quanto à qualidade dos produtos e processos empregados na condução dos campos de produção. No caso do brócolis, isso não é diferente, notadamente em razão de sua importância como alimento funcional, pois apresentam alta concentração de fibras, vitaminas A, B₂ e C, essenciais para a alimentação humana.

As sementes de alta qualidade constituem a base para elevação da produtividade agrícola, exigindo cuidados por parte dos usuários e determinando que as mesmas sejam objeto de inúmeras pesquisas. No entanto, ainda são muitas as lacunas, principalmente quanto à avaliação da qualidade fisiológica de sementes de espécies olerícolas, incluindo-se as brássicas.

A qualidade fisiológica das sementes tem sido caracterizada pela germinação e pelo vigor. O vigor de sementes pode ser definido como a soma de atributos que conferem à semente o potencial para germinar, emergir e resultar rapidamente em

plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais. Dessa forma, o objetivo básico dos testes de vigor é identificar diferenças no potencial fisiológico de lotes de sementes, especialmente daqueles que apresentam poder germinativo elevado e semelhante (MARCOS FILHO, 1999b).

O teste de envelhecimento acelerado é reconhecido como um dos mais difundidos para a avaliação do vigor das sementes de várias espécies cultivadas, sendo capaz de proporcionar informações com alto grau de consistência (HAMPTON; TEKRONY, 1995). Este teste consiste em avaliar a resposta das sementes, a partir de sua germinação, após as mesmas terem sido submetidas à temperatura elevada e umidade relativa do ar próxima a 100%, por determinado período de exposição (ROSSETO; MARCOS FILHO, 1995). Baseia-se no fato de que a taxa de deterioração aumenta consideravelmente quando as sementes são expostas a tais condições (NAKAGAWA, 1999). Assim, verifica-se que lotes com baixo vigor apresentam maior queda na sua viabilidade depois de expostos à situação de estresse pelo envelhecimento (MARCOS FILHO, 1999a), de

modo que existe possibilidade de serem estabelecidas diferenças no potencial fisiológico dos mesmos (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001).

Um aspecto importante a ser considerado no teste de envelhecimento acelerado é a diferença na absorção de água pelas sementes que, expostas a atmosfera úmida, podem apresentar variações acentuadas no grau de umidade. Pesquisas conduzidas com espécies que possuem sementes de pequeno tamanho têm revelado resultados pouco consistentes devido à variação muito acentuada do grau de umidade das amostras, após o envelhecimento (RAMOS et al., 2004). Nesse sentido, vêm sendo estudadas alternativas para a condução do envelhecimento acelerado com sementes dessas espécies, como a substituição da água por soluções de sais. Dependendo da solução utilizada, são obtidos níveis específicos de umidade relativa do ar, permitindo reduzir a taxa de absorção de água, a velocidade e a intensidade de deterioração das sementes (JIANHUA; McDONALD, 1996), sem reduzir a sensibilidade do teste.

Assim, esta pesquisa teve como objetivo estudar a metodologia do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de brócolis, bem como, verificar a possibilidade do uso de solução salina de NaCl como alternativa para controle da absorção de água pelas sementes durante a realização do teste.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida com quatro lotes de sementes de brócolis, variedade Ramoso Santana (cultivada no inverno). Para avaliar o desempenho das sementes de brócolis, quanto ao potencial fisiológico, foram conduzidos os seguintes testes, em cada lote:

Teor de água (TA)

Conduzido com 5g de sementes por repetição, pelo método da estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 24 h (BRASIL, 2009).

Germinação (G)

Conduzido com quatro repetições de 50 sementes, distribuídas sobre duas folhas de papel tipo germitest, umedecidas com água destilada e esterilizada, equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco.

Os rolos foram mantidos em germinador com temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, na presença de luz constante. A contagem foi realizada aos dez dias

após a semeadura, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Emergência de plântulas (EP)

Empregaram-se bandejas de poliestireno expandido de 200 células contendo substrato comercial (Plantmax[®]) e uma semente por célula. Foram utilizadas 400 sementes de cada lote, subdivididas em oito subamostras de 50 sementes, mantidas a uma temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, em estufa. Foram feitas irrigações sempre que necessário e a avaliação ocorreu 14 dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas (NAKAGAWA, 1999).

Índice de velocidade de emergência (IVE)

Realizado conjuntamente com o teste de emergência, através de contagens diárias do número de plântulas emergidas até o 14^o dia de emergência. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plantas emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962), pela fórmula:

$$\text{IVE} = \frac{\text{E1}}{\text{N1}} + \frac{\text{E2}}{\text{N2}} + \dots + \frac{\text{En}}{\text{Nn}}$$

Onde: IVE = índice de velocidade de emergência; E1, E2, En = número de plantas emergidas, computadas na primeira, na segunda e na última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

Envelhecimento acelerado tradicional (H₂O)

Conduzido com a utilização de caixas plásticas (tipo gerbox), contendo 40 mL de água e uma bandeja de tela de alumínio, onde as sementes, após pesagem (4,0 g) foram distribuídas formando uma única camada uniforme.

As caixas foram mantidas em câmara do tipo BOD, a $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48, 72 e 96 h. Decorrido cada período de envelhecimento, quatro subamostras de 50 sementes foram submetidas ao teste de germinação, seguindo metodologia descrita anteriormente, com avaliação realizada no quinto dia após a semeadura. Paralelamente, foi determinado o teor de água das sementes após cada período de envelhecimento, para verificar a uniformidade das condições do teste (MARCOS FILHO, 1999b).

Envelhecimento acelerado com uso de solução não saturada de NaCl (SNS)

Realizado de forma semelhante ao envelhecimento acelerado tradicional, porém, adicionando-se ao fundo das caixas plásticas 40 mL de solução não saturada de sal (11 g de NaCl diluídas em 100 mL de água), estabelecendo um ambiente com aproximadamente 94% de umidade relativa, adaptando a metodologia descrita por Jianhua e McDonald (1996) e determinado conforme a equação de VAN'T HOFF descrita por Salisbury e Ross (1992).

Envelhecimento acelerado com o uso de solução saturada de NaCl (SSS)

Realizado de forma semelhante ao envelhecimento acelerado tradicional, porém, adicionando-se ao fundo das caixas plásticas, 40 mL de solução saturada de NaCl (40 g de NaCl diluídas em 100 mL de água), estabelecendo ambiente com aproximadamente 76% de umidade relativa, seguindo a metodologia descrita por Jianhua e McDonald (1996).

Delineamento experimental e análise estatística

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para comparação das médias pelo teste de Tukey a

5% de probabilidade, utilizou-se o esquema fatorial 4 x 4 (quatro tempos de exposição e quatro lotes de sementes). Para os teores de água não foram realizadas análises estatísticas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e, as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$), empregando-se o programa de análises estatísticas Sisvar (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes ao teor de água das sementes de brócolis foram semelhantes para os quatro lotes (Tabela 1). Este fato é importante para a execução das avaliações de envelhecimento acelerado, considerando-se que a uniformização do teor de água das sementes é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (MARCOS FILHO, 2005), pois dentro de certos limites, as sementes mais úmidas são mais afetadas pelas condições do envelhecimento acelerado. De acordo com a pesquisa de TUNES et al. (2011), em lotes de sementes de salsa, quando as sementes apresentam um teor de água relativamente baixo, é possível uma maior confiabilidade aos resultados obtidos nos testes de qualidade fisiológica.

Tabela 1. Qualidade inicial dos lotes das sementes de brócolis pelo teor de água (TA), teste de germinação (G), emergência de plântulas (EP) e índice de velocidade de emergência (IVE).

Lotes	TA	G	EP	IVE
	%			
1	5,3	96,0a	80,0b	11,7b
2	5,6	87,0b	73,0b	8,3b
3	5,3	81,0c	81,0b	10,7b
4	5,9	93,0a	88,0a	13,5a
CV (%)		5,1	15,1	10,8

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CV – coeficiente de variação.

Os resultados do teste de germinação (Tabela 1) indicaram diferenças significativas entre os lotes de sementes de brócolis, destacando os lotes 1 e 4 como de qualidade superior, o lote 3 de qualidade inferior e o lote 2 como de qualidade intermediária. Os testes de emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência evidenciaram o lote 4 como de potencial fisiológico superior e os lotes 1, 2 e 3 como inferior.

Examinando-se os resultados do teste de envelhecimento acelerado (Tabela 2), tanto o procedimento tradicional (48 e 72 h), quanto com solução não saturada de NaCl (48 h), permitiram a estratificação dos lotes de sementes de brócolis quanto ao vigor, proporcionando a mesma separação

dos lotes verificada pela emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (Tabela 1).

Os resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado, conduzido de forma tradicional (96 h), com solução salina não saturada (96 h) e com solução saturada de NaCl (48 h) separaram os lotes em maior número de níveis de vigor, pois, além de indicar o lote 4 como de potencial fisiológico superior, também detectaram diferenças entre os lotes 1, 2 e 3, não verificados nos testes de emergência de plântulas e de índice de velocidade de emergência. No entanto, na análise da germinação após o envelhecimento tradicional, verifica-se elevada redução na porcentagem de plântulas, indicando que o procedimento que utiliza

96 h de exposição não é o mais adequado para sementes de brócolis. Rodo et al. (2000), Ramos et al. (2004) e Tunes et al. (2009) constataram também, que o estresse provocado pelo teste de

envelhecimento acelerado tradicional a 42 °C por 96 h ocasionou uma redução expressiva da germinação de sementes de rúcula, cenoura e cevada.

Tabela 2. Porcentagem de germinação das sementes de brócolis após o teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O), solução salina (SNS) e solução saturada de NaCl (SSS), durante período de exposição de 48, 72 e 96 h.

Lotes	Tradicional			SNS			SSS		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
	%								
1	81b	47b	18b	79b	80a	77b	80b	78a	73a
2	80b	44b	11c	76b	73b	59c	74c	69b	58b
3	75b	42b	5d	70b	67c	48d	69d	63b	46b
4	87a	55a	27a	88a	83a	85a	85a	82a	75a
CV (%)	6,4			9,9			4,2		

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CV – coeficiente de variação.

A exposição das sementes ao envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl por 48 horas mostrou-se como o mais adequado, pois o menor período de execução é uma característica desejável em um teste de vigor, fornecendo resultados em tempo menor.

Os resultados médios relativos ao teor de água atingido após a realização do teste de envelhecimento acelerado tradicional, solução não saturada e saturada de NaCl estão na Figura 1A. Observa-se que sementes de brócolis envelhecidas no procedimento tradicional, atingiram teores de água mais elevados e com maiores variações, diferindo até valores de 8,3 pontos percentuais (p.p.), que excedem os limites toleráveis de 3 a 4, indicados por Marcos Filho (1999b). Da mesma forma, Rodo et al. (2000) verificaram, para sementes de cenoura, variações de 5,0 a 9,2 p.p., consideradas excessivas, ao final do envelhecimento acelerado tradicional.

Por outro lado, verificou-se que o uso de solução salina não saturada reduziu a velocidade de absorção de água pelas sementes durante o período de envelhecimento, não excedendo a variação de 3,9 p.p. do teor de água entre os lotes envelhecidos (Figura 1B). O mesmo ocorreu com o envelhecimento com uso de solução saturada de NaCl (Figura 1C), com variação máxima de 3,2 p.p. As condições de envelhecimento acelerado com solução não saturada e saturada de NaCl promoveram efeitos menos drásticos, pois, ao atingir menores teores de água (máximo de 14,83% (SNS), 14,31% (SSS) enquanto o tradicional chegou a 40,01%), o grau de deterioração das sementes foi atenuado em relação ao normalmente verificado com o uso do método tradicional. Isso também foi

verificado por Torres e Marcos Filho (2003), trabalhando com sementes de melão.

Resultados semelhantes foram encontrados por TORRES (2004), com a utilização de solução saturada de NaCl no teste de envelhecimento acelerado com sementes de erva doce, em que a redução da velocidade de absorção de água pelas sementes acarretou em deterioração menos acentuada, resultados menos drásticos e mais uniformes que os obtidos com o procedimento tradicional. Este método também mostrou-se eficiente para avaliação do vigor de sementes de tomate (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001), melancia (BHERING et al., 2003), rúcula (RAMOS et al., 2004) e azevém (TUNES et al., 2011).

Os resultados deste trabalho confirmam que o uso de solução salina saturada ou não de NaCl contribui para o aprimoramento da metodologia do teste de envelhecimento acelerado na avaliação do vigor de sementes de brócolis pois, além de utilizar o mesmo equipamento do procedimento tradicional, proporciona condições para absorção de menores quantidades de água e de maneira mais uniforme pelas sementes.

CONCLUSÕES

A utilização de solução não saturada e saturada de NaCl diminui a absorção de água e a taxa de deterioração das sementes de brócolis durante o teste de envelhecimento acelerado.

A exposição por um período de 48 h á envelhecimento acelerado em solução saturada de NaCl constitui opção promissora para a avaliação do potencial fisiológico das sementes de brócolis.

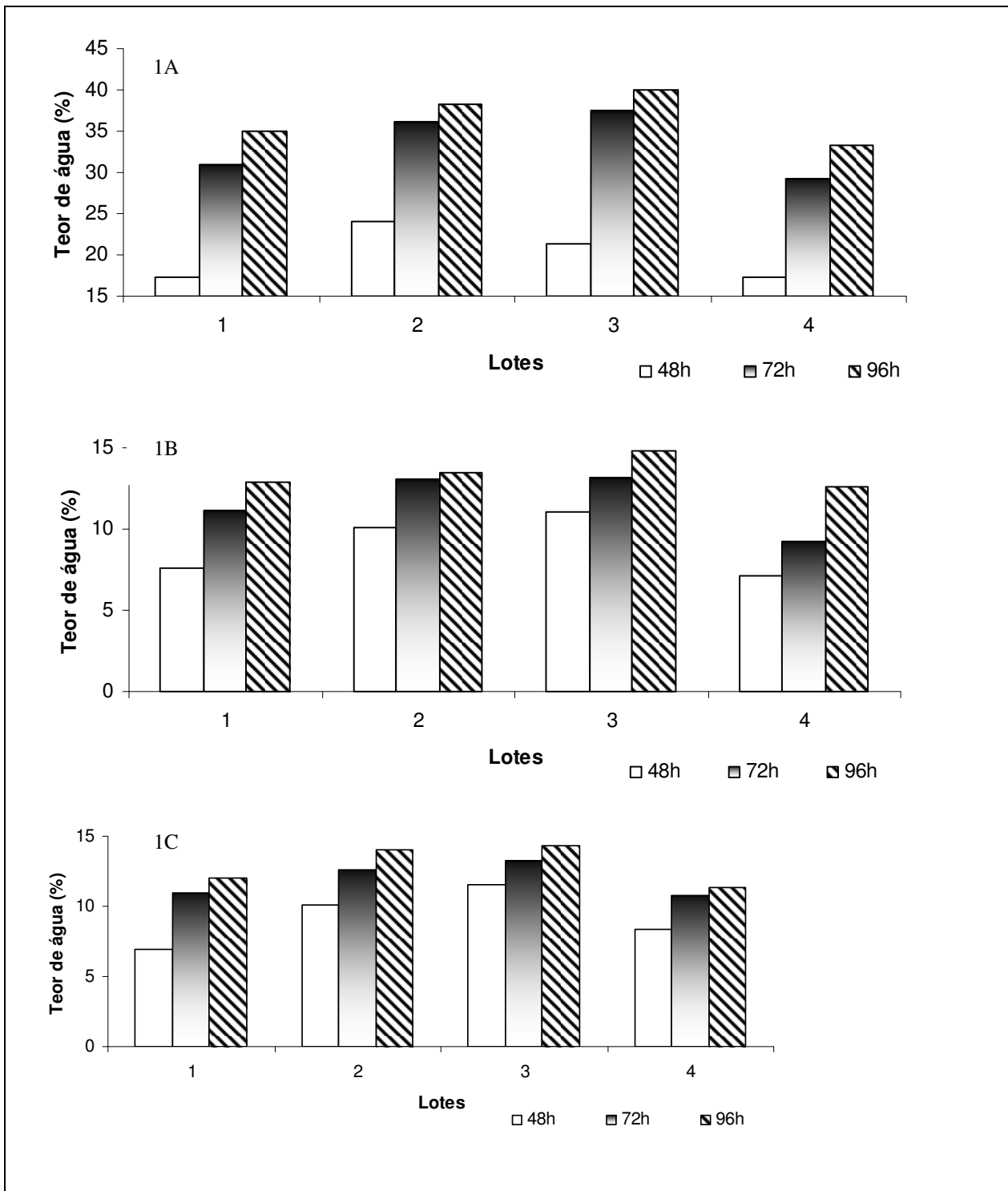


Figura 1. Teor de água (TA) das sementes de brócolis após o teste de envelhecimento acelerado tradicional (H_2O), solução salina (SNS) e solução saturada de NaCl (SSS), durante o período de exposição de 48, 72 e 96 h.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the methodology of the accelerated aging test to evaluate the physiological potential of broccoli seeds and verify the possibility of using saline solution (NaCl) as an alternative for controlling water uptake by seeds during the test without reducing its sensitivity. Four seed lots were submitted to the germination test, seedlings emergence, speed of emergence index and accelerated aging (periods of 48, 72

and 96 hours, with or without the use of saline solution). A completely randomized factorial scheme 4 x 4 (four times exposure and four seed lots) was used, with four replications. The use of saturated saline solution reduces water absorption by seeds of broccoli during the accelerated aging test, resulting in a less pronounced and less drastic rate of deterioration and more uniform results. Exposure for a period of 48 hours is promising option for the evaluation of seed vigor.

KEYWORDS: Solution saline. Germination. Vigor. Vegetables. Physiological quality.

REFERÊNCIAS

- BHERING, M. C.; DIAS, D C. F. S.; BARROS, D. I.; TOKUHISA, D. Avaliação do vigor de sementes de melancia (*Citrullus lanatus* Scherad) pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 1-6, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399p.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 225-258.
- HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. Zurich: ISTA, 1995. 117p.
- JIANHUA, Z.; MCDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging test for small seed crops. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 25, p. 123-131, 1996.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C; VIEIRA, R. D; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de Sementes**. Conceitos e Teses. Londrina, 1999 a. p. 1.1-1.21.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. **Vigor de sementes**. Conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999b. p. 3.1-3.24.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005, 495p.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado do desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C; VIEIRA, R. D; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de Sementes**. Conceitos e Teses. Londrina, 1999. p. 2-1/2-24.
- PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.
- RAMOS, N. P.; FLOR, E. P. O; MENDONÇA, E. A. F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2004.
- RODO, A. B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 289- 292, 2000.
- ROSSETTO, C. A. V.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre os métodos de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 123-131, 1995.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4 ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682p.

TORRES, S. B. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 20-24, 2004.

TORRES, S.B.; MARCOS FILHO, J. Accelerated aging of melon seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 77-82, 2003.

TUNES, L. M.; BADINELLI, P. G.; OLIVO, F.; BARROS, A. C. S. A. Teste de envelhecimento acelerado em cevada. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 21, n. 2, p. 111-119, 2009.

TUNES, L. M.; PEDROSO, D. C.; BADINELLI, P. G.; TAVARES, L. C.; RUFINO, C. A.; BARROS, A. C. S. A.; MUNIZ, M. F. B. Envelhecimento acelerado em sementes de cebola com e sem solução salina saturada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 33-37, 2011.