

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO AGRONOMIA
AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Jean Carlo Rodrigues Machado
00194025

“Identificação das fragilidades envolvidas nos processos de análise de qualidade de sementes”

PORTO ALEGRE, Setembro 2016.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO

**“Identificação das fragilidades envolvidas nos processos de análise de
qualidade de sementes”**

Jean Carlo Rodrigues Machado
001940

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como
requisito para obtenção do Grau de Engenheiro
Agrônomo, Faculdade de Agronomia, Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor de campo do Estágio: João Rodolfo Guimarães Nunes.
Eng.º Agrônomo Mestre em Ciência e Tecnologia de Sementes
Orientador Acadêmico do Estágio: Ingrid Bergman Inchausti de Barros
Eng.ª Agrônoma Doutora em Agronomia.

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Prof. Fábio Kessler Dal Soglio (Departamento de Fitossanidade) (Coordenador)
Prof.ª Beatriz Maria Fedrizzi (Departamento de Horticultura e Silvicultura)
Prof. Alberto Vasconcellos Inda Junior (Departamento de Solos)
Prof.ª Carine Simioni (Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia)
Prof.ª Mari Lourdes Bernardi (Departamento de Zootecnia)
Prof. Samuel Cordeiro Vitor Martins (Departamento de Plantas de Lavoura)

PORTO ALEGRE, Setembro de 2016.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela proteção e saúde concedida durante o período da graduação em Agronomia e do estágio.

A minha família, principalmente a meus pais, Joaquim e Lives, gostaria de agradecer por todo o auxílio prestado, pela confiança depositada, bem como lamentar pelas horas de ausência, as quais não pude estar presente devido às responsabilidades acadêmicas.

Ao meu Supervisor de campo João Rodolfo, pela oportunidade concedida, pelos conhecimentos transmitidos, sobretudo pelo exemplo de profissionalismo e ética.

Agradeço de forma especial a Prof^a Ingrid Barros, pelos ensinamentos, conselhos e pelo carinho qual sempre me tratou durante a jornada de bolsista. Desde já guardo a amizade a qual levarei comigo por toda a vida.

À FEPAGRO pela oportunidade do estágio concedida, além dos funcionários do Laboratório de Tecnologia de Sementes (LTS), sempre muito atenciosos e solidários.

À UFRGS e Faculdade de Agronomia, esta casa a qual tenho muita referência e orgulho, guardo na memória com muita saudade os momentos felizes que aqui passei principalmente com meus colegas e professores.

APRESENTAÇÃO

O Curso da Faculdade de Agronomia sempre nos instiga a buscar novos conhecimentos, principalmente no que se refere às novas tecnologias desenvolvidas e voltadas a agricultura.

Durante a formação acadêmica, o intuito foi aperfeiçoar os conhecimentos técnicos, desenvolvendo atividades como bolsista de Extensão e Pesquisa. Neste contexto me inseri principalmente nos estudos envolvidos na domesticação de Plantas Alimentícias não Convencionais. Parte dos estudos foram com a propagação de inúmeras espécies, mas essas investigações nunca foram tão a fundo principalmente pela abrangência dos projetos, bem como pela baixa infraestrutura do laboratório para esses estudos.

Os assuntos relativos à qualidade de sementes têm gerado muito interesse no meio agrônomo, uma vez que esta caracteriza como um dos fatores limitantes envolvidos na otimização dos processos produtivos. Por estes motivos a área de produção e tecnologia de sementes tem gerado muita pesquisa, possibilitando tecnologias mais sustentáveis de produção.

Já se sabe que o sucesso na produção das principais commodities está intrinsecamente ligado à qualidade agrônoma da semente, isso porque a semente é o início de todo o processo da produção vegetal e também animal. Aliado a este contexto, destaca-se ainda que esta é uma área onde existe demanda por profissionais qualificados, demanda esta que pode ser preenchida por alunos da Agronomia/UFRGS, já que esta instituição é destaque pelo conhecimento gerado e transmitido.

RESUMO

O estágio foi desenvolvido junto ao Laboratório de Análise de Sementes da FEPAGRO, no período de 03/03/2016 à 29/07/2016, totalizando 316 horas. O objetivo do estágio foi proporcionar ao estudante o acompanhamento e a aprendizagem sobre as metodologias que envolvem a análise de qualidade de sementes. As principais atividades desenvolvidas foram testes de germinação, testes de pureza, análises de outras sementes por número e testes de tetrazólio em amostras de sementes de espécies de importância econômica. Ao final do estágio, o aluno instalou e avaliou um experimento com o intuito de somar todos os conhecimentos, analisando uma amostra de sementes de hibisco. O período de aprendizado foi de extrema importância na formação acadêmica do estudante, alcançando com êxito os objetivos propostos, como pode ser comprovado no andamento do presente TCC.

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Tabela 01 – Resultados médios dos testes de germinação (%) de sementes de Hibisco em função das diferentes temperaturas.....	23

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Figura 1 - Detalhes de plântulas de hibisco, 1ª avaliação aos sete dias do teste de germinação a distintas temperaturas.....	23
2. Figura 02- Comparação do desenvolvimento de plântulas de hibisco sob diferentes temperaturas de germinação.....	24

SUMÁRIO

	Página
1. Introdução	9
2. Caracterização do meio físico e das disposições legais e institucionais.....	10
3. Caracterização da instituição de realização do trabalho	10
4. Referencial teórico.....	13
5. Atividades Realizadas	17
5.1 Ensaio de germinação de sementes de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	17
5.2 Treinamento do estagiário: atividades de certificação laboratorial e funcionamento de equipamentos.....	18
5.3 Divisão de amostras, instalação e avaliação do teste de germinação.....	18
5.4 Teste de tetrazólio, análise de pureza e outras sementes por número.....	19
6. Resultados e Discussão	21
7. Considerações finais	25
Referências Bibliográficas	26

1. INTRODUÇÃO

No contexto atual econômico, a agricultura tem demonstrado relevante importância, já que é o setor responsável por 23% do PIB Brasileiro, contribuindo efetivamente na geração de emprego e capitalizando cerca de um quarto dos empregados.

Nos últimos anos, a produção brasileira de sementes saltou de 1,6 milhões de toneladas em 2001 para mais de três milhões de toneladas na safra de 2012/13 (ABRASEM, 2014).

A população mundial atualmente encontra-se em torno de 7,2 bilhões de pessoas e chegará a 9,6 bilhões em 2050, exigindo como contrapartida um aumento significativo na produção mundial de alimentos. Sabe-se que restam pouquíssimas áreas agriculturáveis no planeta exigindo uma dependência e pressão sobre os recursos naturais não renováveis cada vez maiores. Uma das alternativas será uma produção mais sustentável, com o uso racional de insumos aliado ao controle de processos produtivos.

Neste contexto, além do potencial genético, atributos de ordem física, fisiológica e sanitária da qualidade de sementes, merecem igual importância e atenção. Assim, é de extrema importância que a tecnologia de produção de sementes caminhe com o desenvolvimento de novas cultivares, garantindo com isso o adequado estabelecimento das lavouras e, dessa forma, sendo preponderante no aumento da produção agrícola.

O estágio foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Sementes, sediado na Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), no município de Porto Alegre.

As atividades iniciaram no dia 01 de abril e finalizaram no dia 29 de julho, com carga horária de 20 horas semanais, totalizando ao final 316 horas.

O objetivo do estágio foi oportunizar ao estudante a possibilidade de desenvolver a prática laboratorial de análise de sementes, principalmente em relação aos procedimentos exigidos para o Registro Nacional de Sementes e Mudas, principalmente no que se refere às conformidades necessárias para a obtenção do laudo de certificação de sementes.

2. CARACTERIZAÇÃO DO MEIO FÍSICO E DAS DISPOSIÇÕES LEGAIS INSTITUCIONAIS

O Laboratório de Tecnologia de Sementes (LTS) da FEPAGRO está credenciado junto ao Ministério de Agricultura e Pecuária (MAPA) em conformidade com o exigido na Lei Federal Lei nº 10.711 e no Decreto nº 5.153 de 2004. A legislação pertinente surgiu principalmente para deliberar e regular todos os processos envolvidos na produção de sementes e mudas.

Quanto às análises de amostras de sementes, estas somente serão válidas, para os fins previstos na Lei 10.711, desde que realizadas diretamente pelo MAPA ou por laboratório por ele credenciado ou reconhecido.

Aos laboratórios credenciados, o MAPA estabelece a obrigatoriedade da utilização das metodologias dispostas na Regra de Análises de Sementes (RAS), exigindo dos laboratórios infraestrutura material e humana para o cumprimento das atividades deliberadas.

O MAPA promove auditorias em intervalos pré-definidos que visam avaliar e verificar se estão sendo cumpridas todas as etapas necessárias nos processos de análise de sementes. Para tal, é exigida da unidade delegada a gestão de todos os processos e das atividades desenvolvidas que devem ser documentadas para as posteriores auditorias.

O cumprimento de todas as especificações exigidas pelo MAPA fica facilitado à medida que o LTS da FEPAGRO segue as normas do Sistema de Gestão em Laboratórios, bem como o atendimento de todos os requisitos dispostos pela ISO/IEC 17025, que conferem obrigatoriedades, como uso de ações para manter os padrões de qualidade, principalmente para realizar ensaios de calibrações e amostragens.

A ISO 17025 para a acreditação do laboratório exige, entre outras, o treinamento dos funcionários, que é um importante fator a ser considerado pelo laboratório, o qual deve ser feito a partir de cursos, de forma periódica, sendo atualizados com as constantes inovações do setor metrológico.

Para a acreditação da atividade dos laboratórios de metrologia, é essencial que as funções de cada um estejam definidas de maneira clara e concisa, constando responsabilidades e atribuições corretamente distribuídas, de forma que fique respeitada a função de cada um dentro dos processos. Por exemplo, cabe ao Responsável Técnico (RT) o acompanhamento de todos os procedimentos operacionais, o gerenciamento pessoal, além de

estabelecer procedimentos para a análise crítica de pedidos, propostas e contratos. Ao responsável de qualidade (RQ) cabe o controle de documentos e registros, a aquisição de suplementos e serviços e a calibração dos equipamentos. Por último, cabe ao Analista treinado as atividades de recebimento e codificação de amostras, preparo de amostras, realização de ensaios e validação de metodologias.

O LTS conta hoje com uma edificação de cerca de 500 m², onde estão dispostos um mobiliário e equipamentos necessários para os diversos testes e procedimentos envolvidos no processo de análise de qualidade de sementes. Outro recurso do LTS é o corpo técnico que conta com dois responsáveis técnicos, dois responsáveis de qualidade e dois analistas. Estes profissionais apresentam formação acadêmica nas mais diversas áreas técnicas tais como Agronomia, Biologia, Química e Florestal.

3. CARACTERIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

A FEPAGRO, Fundação de Pesquisa Agropecuária, é uma instituição do Estado do Rio Grande do Sul, vinculada à Secretaria Estadual de Agricultura e Pecuária. Sua contribuição para a agricultura iniciou em 1919, divulgando inúmeros resultados de pesquisa em diversas áreas da agricultura e pecuária.

Atualmente, a FEPAGRO está localizada em várias regiões do Estado nas suas 22 unidades e desenvolve trabalhos conjuntos com agricultores, universidades e diversas instituições de pesquisa e extensão. Suas pesquisas destacam-se, sobretudo pela atuação sólida no fortalecimento da agricultura gaúcha, não só na divulgação de novos materiais genéticos, mas também no fomento de diversas tecnologias para as atividades agropecuárias.

Dentre as diversas unidades de pesquisa, podemos destacar a FEPAGRO Vale do Taquari, o Centro de Pesquisa Emílio Schenk, que desenvolve atividades de melhoramento e conservação do banco ativo de germoplasma de citrus. Sua contribuição não está somente no lançamento de novas cultivares, mas também no fortalecimento do desenvolvimento rural endógeno de inúmeras regiões, tais como o Vale do Caí e Taquari, que hoje se destacam a nível nacional, como um polo de produção e comercialização de frutas cítricas.

Por sua vez, o local da concessão do estágio foi a Unidade Central da FEPAGRO, no LTS, que foi criada em 1963, e credenciada pelo MAPA em 1967. Sua atuação está principalmente em atender os produtores e comerciantes de sementes, na prestação de serviço, no que se refere à certificação da qualidade de sementes. Desenvolve ainda atividades de pesquisa com outras instituições, bem como na contribuição da formação acadêmica de inúmeros estudantes de Doutorado, Mestrado e Graduação nas mais diversas áreas como ciências agrárias e biológicas.

Os serviços prestados pelo Laboratório de Tecnologia de Sementes são: Teste de Germinação, Teste de Tetrazólio, Análise de Pureza das Sementes, Determinação de Outras Sementes, Peso de Mil Sementes, Valor Cultural e Determinação de Umidade de Semente. São emitidos em média 600 laudos por ano, das mais diversas espécies, como as grandes culturas, forrageiras, olerícolas, florestais, ornamentais, medicinais, aromáticas e condimentares.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

De acordo com Hampton (2002), os componentes da qualidade de sementes estão agrupados em três categorias: descrição (pureza física, pureza genética, uniformidade de tamanho e forma, peso), higiene (índice de contaminação por espécies silvestres, sanidade) e potencial de desempenho (germinação, vigor, grau de umidade e uniformidade de emergência de plântulas, armazenabilidade).

Os laboratórios de ensaio e calibração devem desenvolver e manter procedimentos a fim de identificar, coletar, indexar, acessar, arquivar, armazenar, manter e dispor dos registros técnicos e da qualidade (ABNT NBR ISO/IEC 17025).

Os dados de análise de sementes apresentam uma grande importância, pois interferem em inúmeras tomadas de decisão a campo. Entretanto, por mais criteriosas que sejam as análises, os resultados obtidos não terão valor caso a amostra analisada não seja representativa do lote da qual foi retirada (Lopes & Nascimento, 2009).

O tamanho da porção deve ser calculado, de forma que a amostra de trabalho seja suficiente para a elaboração dos testes requeridos pelo contratante, salientando a obrigatoriedade do armazenamento de uma amostra de rastreabilidade. As amostras simples devem ser misturadas para formar a amostra composta do lote. A redução desta, geralmente necessária para formar a amostra média, deve ser feita com o emprego de um divisor de amostras adequado, o tamanho da amostra relativa conforme a espécie em questão (BRASIL, 2009).

De acordo com Hardin et al. (1965), os divisores do tipo centrífugo Garmet, apresenta baixa eficiência quando utilizado para divisão de sementes pequenas, como gramíneas. Neste mesmo contexto, Oliveira & Filho (1983) destacam que, ao passar dos anos em laboratórios de rotinas, os divisores centrífugos apresentaram distribuição desuniforme pelas duas bicas de saída.

Outros equipamentos também utilizados são os divisores de solo, que são adequados para as espécies de sementes grandes, sementes palhentas e de espécies florestais, podendo ser fabricados com medidas menores, os quais possibilitam a utilização também em semente pequenas (BRASIL, 2009).

Segundo Novembre (2001), a mensuração das sementes fisicamente puras é utilizada para determinação da porcentagem de germinação das sementes, que representa a quantidade

de plântulas que têm condições de se estabelecer em campo sob condições favoráveis de ambiente. Outra utilização da pureza se fará necessária para o cálculo da quantidade de sementes para a semeadura e também para estabelecer o valor do lote para a comercialização. Para o comércio de sementes, o resultado do teste de germinação é o principal indicativo do potencial fisiológico da semente.

Existe muitas formas de avaliar a qualidade fisiológica das sementes, destacando-se o teste de germinação como um dos mais utilizados, já que esse teste fornece condições ideais ao processo, o que possibilita ao lote expressar seu potencial máximo de formação de plântulas normais, diferindo muitas vezes dos resultados obtidos em campo (Demir, 2008).

O teste de germinação trata-se de um procedimento, sob condições controladas de temperatura, teor de água e luz. Esses testes devem ser realizados de acordo com as recomendações ou prescrições dispostas nas Regras de Análise de Sementes (RAS) (Ferreira & Borghetti, 2004).

Neste mesmo raciocínio, Marcos-Filho (2005) ressalta algumas divergências entre o resultado do teste de germinação e desempenho real das sementes a campo, tais como: prioridade dirigida à interpretação baseada na morfologia da planta, desconsiderando a rapidez da germinação e a falta de sensibilidade para detectar evolução do processo de deterioração, acarretando também deficiências na interpretação do potencial de armazenamento dos lotes de semente.

Durante o processo de germinação, é primordial a uniformidade das plantas no tempo e no espaço, tornando-se importante a necessidade de identificar o tipo de dormência, aplicando-se o método específico para superá-la. Dentre os tipos de dormência existentes, destacam-se os físicos, caracterizados pela impermeabilidade do tegumento, e os fisiológicos, devido ao balanço hormonal ou à concentração de pigmento, como fitocromo vermelho ou vermelho extremo (Smith & Morgan, 1983).

O período de dormência das sementes de arroz comum, por exemplo, é variável entre cultivares, porém as condições de armazenamento também interferem, principalmente com a elevação da temperatura, segundo Bewley & Black (1994).

A qualidade sanitária das sementes é outro aspecto a ser observado, sendo que os microrganismos associados às sementes podem interferir na germinação e estabelecimento de plântulas no campo (Sampaio et al., 1997).

Lucca-Filho et al. (1999) destacaram que os fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium equiseti*, *Drechslera oryzae* e *Drechslera dictyoides* são responsáveis pela redução do vigor e da germinação de sementes, influenciando negativamente o estabelecimento das plantas.

Por sua vez, Liberal (2007) destacou que o teste de tetrazólio é um método tradicional na avaliação da qualidade e do vigor de sementes. Neste mesmo sentido, França-Neto et al (1990) destaca que sua utilização massiva se dá principalmente pela rapidez na obtenção de resultados de alta confiabilidade, além de não ser afetado pela presença de fungos e bactérias, os quais interferem potencialmente no teste de germinação.

Alguns trabalhos acadêmicos têm demonstrado que pode ocorrer ampla variação da germinação entre cultivares, lotes e safra agrícola, alcançando, em alguns casos, 11 semanas após a colheita ou até 120 dias após o início da dormência em sementes de arroz (Amaral & Gonzalo, 1977; Franco et al., 1997; Guimarães et al., 2000).

Segundo Eichelberg et al. (2001), seis dias de pré-esfriamento superam praticamente toda a dormência em sementes de azevém anual, armazenadas por sete meses.

Outra estimativa feita nos testes de qualidade de sementes é identificar o número de sementes (inclusive bulbilhos e tubérculos) de outras espécies presentes na amostra de trabalho. Estas análises são realizadas através da identificação e contagem das outras espécies, sendo expressa em número de sementes encontradas no peso da amostra de trabalho. Quando as sementes encontradas não puderem ser identificadas em nível de espécie, é permitido relatar apenas o nome do gênero ou então o nome da família botânica (BRASIL, 2009).

Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L. - Malvaceae) é uma importante planta medicinal, originária de regiões tropicais, tais como Índia, Sudão e Malásia, sendo posteriormente levada para a África, Sudeste da Ásia e América Central. É conhecida popularmente como “azedinha, caruru-azedo, quiabo-roxo, rosélia e vinagreira”. É um arbusto anual, que pode atingir cerca de 2 a 3 m de altura, sendo cultivada devido ao interesse em suas folhas, cálices, sementes e fibras, que são utilizados na alimentação de animais, como fonte de fibras para a indústria de tecido e papel e para preparar bebidas com objetivos culinários e medicinais (Mukhtar, 2007).

Trata-se de uma espécie de fácil reconhecimento pelo cálice e epicálice carnosos de coloração vermelha. Os ramos, nessa espécie, são vináceos, apresentam cálices flores solitárias com as pétalas amareladas e o tubo estaminal inserto na corola. Apresenta um fruto seco do tipo aquênio, com inúmeras sementes no seu interior (Esteves et al, 2014).

Amaro et al. (2013) estudaram o efeito das temperaturas (25 e 30°C) e da embebição em água destilada por diferentes tempos (0, 24,48h) sobre a germinação de hibisco. Os resultados do teste de germinação mostraram que quando as sementes que foram colocadas para germinar a temperatura constante de 30°C houve melhoria na porcentagem de plântulas normais, atingindo valores de 72%.

Além da temperatura de germinação, outro fator determinante da capacidade germinativa é o processo de secagem artificial utilizado em algumas sementes; caso este não seja conduzido de forma e em temperatura adequadas, a viabilidade das sementes pode ser comprometida. Segundo Martins et al. (1994), a temperatura do ar de secagem de plantas medicinais geralmente varia entre 20 e 40 °C, para folhas e flores.

Nascimento (2009) recomendam temperatura máxima do ar de secagem de 40°C, devendo-se, na fase inicial, utilizar temperaturas de 30-35°C e 40° na fase final, devendo-se nas últimas semanas reduzir gradativamente a temperatura. O mesmo autor, em estudos com quiabo (*Abelmoschus esculentus* L - Malvaceae), destacou que a secagem das sementes dentro do fruto (secagem lenta) estimulou a germinação quando comparada com sementes extraídas imediatamente após a colheita, nos estágios iniciais de desenvolvimento.

Outro fator determinante a qualidade de semente, é como os lotes são mantidos ao final da colheita, ou seja, as técnicas que são utilizadas para manter ou modificar o teor final de umidade. O teor de água presente no interior da semente varia em relação a espécie estudada e são muitos os pesquisadores envolvidos nessa fase da tecnologia de sementes (Marcos Filho 2005).

5. ATIVIDADES REALIZADAS

5.1 Ensaio de germinação de sementes de *Hibiscus sabdariffa* L

O trabalho foi conduzido com a finalidade de agregar todos os conhecimentos acumulados durante o estágio. A pesquisa foi feita utilizando sementes de *H. sabdariffa*, que foram coletadas na Horta Comunitária da Lomba do Pinheiro (parada12-A), e posteriormente processadas no Laboratório de Horticultura da UFRGS, pelo próprio estagiário.

Ao final, obtiveram-se duas amostras de sementes: a primeira oriunda de frutos verdes, que foram secas em estufa de ar forçado a 40°C por duas semanas, objetivando-se a possibilidade de aproveitamento das sementes secas junto às sépalas de *H. sabdariffa*, as quais tem apelo comercial. A segunda amostra foi coletada de frutos maduros deiscentes, que foram secos à temperatura ambiente de 25°C.

Posteriormente, ambas as amostras foram armazenadas em sacos de papel a temperatura ambiente de 25°C, durante um ano, totalizando uma amostra final de 850 g.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia de Sementes da FEPAGRO. As amostras foram pesadas e divididas em amostras de 50 gramas, que foram desinfestadas em solução de hipoclorito a 1%, e após foram dispostas sob papel germitest, sendo divididas em quatro amostras de 100 sementes. Os papeis foram umedecidos com água, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel.

As temperaturas testadas no trabalho foram de 25°C e alternância entre 20°C e 30°C (12 horas), totalizando ao final, duas amostras, quatro tratamentos e quatro repetições. As temperaturas foram acompanhadas três vezes ao dia, uma prática usual no laboratório.

A primeira avaliação foi feita no 7º dia, a segunda contagem ao 14º dia. A avaliação das plântulas consistiu em observar a presença ou ausência das estruturas essenciais à sobrevivência das plântulas como: presença de raiz primária e secundária bem definida, hipocótilo alongado com leves lesões, folhas cotiledonares bem desenvolvidas, região meristemática sem defeitos.

Os dados foram armazenados via registro fotográfico e anotações em papel, os quais foram tabulados e processados posteriormente pelo próprio estudante, com o auxílio do supervisor de campo e do orientador de estágio. Para a análise estatística dos dados, utilizou-se o programa Biostat Pro 5.9.8, realizando-se a ANOVA e posterior comparação de médias dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.2 Treinamento do estagiário: atividades de certificação laboratorial e funcionamento de equipamentos

Ocorreu a capacitação, junto ao responsável técnico, em relação às principais exigências da ISO 17025. Dentre as premissas, esta a identificação das não conformidades durante os processos de análises.

A organização dos registros técnicos é outra exigência necessária para a certificação do laboratório, exigindo de todos os analistas o cadastro de uma rubrica, necessária para identificar o executor de cada ensaio. Neste mesmo contexto, orientou-se o estudante da importância de manter as fichas de análises em condições de manutenção aceitáveis, não podendo haver rasuras ou manchas.

As fichas de análise devem ser mantidas no arquivo, mantendo-se posicionadas conforme a etapa do ensaio em que o lote encontra-se neste processo. É de extrema importância a não divulgação de resultados a terceiros, exigindo do estagiário a assinatura do Termo de Confidencialidade e Sigilo.

Houve o treinamento em relação ao funcionamento e ajuste de equipamentos, alertando sobre os possíveis riscos de acidentes, bem como identificar possível não funcionamento dos equipamentos, os quais exigem posterior calibragem, manutenção ou até mesmo abertura de processos de não conformidade.

5.3 Divisões de amostras, instalação e avaliação do teste de germinação

A amostra de sementes, dando entrada no sistema do laboratório, gera um número de identificação que a acompanha até o final de todas as análises requisitadas.

O primeiro passo é retirar a ficha de análise e posteriormente efetuar a divisão da amostra de trabalho, a partir das deposições exigidas junto a Regra de Análise de Sementes (RAS), ou de acordo com o exigido pelo contratante.

A amostra de trabalho deve ser dividida conforme o tamanho e formato da semente, em divisores do tipo solo ou do tipo Garnet. A amostra primeiramente é homogeneizada três vezes e depois pode ser retirado o peso da amostra de trabalho conforme os testes exigidos: pureza, germinação, outras sementes por número.

O teste de germinação é um ensaio que deve ser efetuado com planejamento, a fim de manter a precisão e credibilidade do resultado, devendo ser elaborado conforme as especificações da RAS, atentando para os requisitos exigidos para cada cultura tais como: protocolo de quebra de dormência, substrato (papel germitest, rolo de papel, areia), temperatura e fotoperíodo.

O procedimento de avaliação do resultado se divide em: primeira (1ª) contagem e segunda (2ª) contagem. Na primeira contagem é feita uma prévia avaliação do ensaio, onde são retiradas plântulas que atendem os pré-requisitos estipulados, com o objetivo de proporcionar condição física (espaço e luz) para o desenvolvimento das plântulas restantes, podendo o estagiário ou analista interromper o teste caso a germinação seja superior a média de 93% das quatro repetições.

Se necessário uma segunda contagem, essa deve finalizar o teste, quantificando o número de plântulas normais, as sementes duras e dormentes, as plântulas anormais e por fim as sementes mortas. Podem-se fazer avaliações intermediárias conforme a evolução do teste a fim de postergar ou retardar o resultado.

Os prévios resultados do teste de germinação devem ser dispostos na ficha de avaliação da amostra de sementes e esta deve, ao final, ser analisada pelo RT do laboratório, que a utilizará para originar o resultado para emissão do Laudo ou para repetir o teste (reanálise).

5.4 Teste de tetrazólio, análise de pureza e outras sementes por número

A viabilidade de sementes de espécies cultivadas e selvagens pode ser estimada a partir do teste de tetrazólio, um teste relativamente fácil e que apresenta um resultado satisfatório em um curto período de tempo.

Para a elaboração do ensaio, este requer do analista uma prévia pesquisa em relação à morfologia interna da semente, tais como o tipo de tecido de reserva, a localização e o tamanho do embrião. Após, as sementes são observadas em uma lupa de 20 ou 40X onde são cortadas com um auxílio de um bisturi. Estas devem ser mantidas sobre um papel umedecido com água destilada, a fim de manter o material viável e hidratado.

Concomitantemente, é preparada a solução de sal de tetrazólio: 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, diluído em água na concentração de sal de 0,1; 0,5 ou até 1%. Dos cortes das sementes utiliza-se somente uma das metades, de forma que ao final tenham-se duas repetições de 100 sementes. Os cortes são colocados em recipientes de cor preta e submersos

na solução. O material é mantido na solução sob uma temperatura e um tempo, que varia de acordo com a espécie.

A montagem e leitura do material são feitas após o tempo estipulado na RAS e deve ser feita pelo responsável técnico, já que esse é um procedimento que difere em cada cultura. Deve-se ficar atento para a coloração obrigatória da região do embrião, já que essa apresenta atividade das enzimas desidrogenases que, em contato com o sal, que é incolor, provoca uma reação, modificando a coloração do sal para vermelho.

Outro serviço prestado é a análise de pureza que deve ser conduzida com muito rigor, já que envolve em alguns casos sementes de tamanho reduzido e que são pesadas em balança analítica. Todo procedimento deve ser conduzido em placas de petri e com o auxílio de pincéis, pinças e lupa. O objetivo do teste de pureza é a retirada de qualquer material que interfere negativamente no teste de germinação e na qualidade da semente no campo. Desta forma, devem ser retirados alguns componentes como: material inerte, outras sementes, sementes chochas, insetos, restos de solo e pedras.

Após a separação do devido material, a amostra é pesada novamente para o cálculo de quanto da massa restante trata-se de sementes puras, em relação ao peso inicial.

Por sua vez, na análise de outras sementes por número, a preocupação é somente de separar outras sementes (cultivadas, silvestres e nocivas), que podem interferir no estabelecimento a campo da cultura de interesse.

Após a análise feita, as amostras são enviadas para identificação de sementes, onde o responsável técnico faz a determinação botânica e adiciona na ficha de análise o nome e quantidade de cada espécie encontrada na amostra. Caso alguma espécie exceda o percentual permitido pelas normativas do MAPA, o laudo emitido proíbe a comercialização do lote.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A divisão da amostra de trabalho é com certeza uma das etapas mais importantes na análise de qualidade de sementes, isso porque interfere diretamente no teste de germinação, podendo provocar diferenças estatísticas entre as repetições. Como preconizado pelo MAPA, a amostra inicial deve ser homogeneizada três vezes, o que é seguido pelo LTS. Quanto aos tipos de divisores, os mais indicados são o Garmet e o divisor de solos ou quarteadores do tipo Johns: são equipamentos com boa precisão, porém apresentam algumas não conformidades.

Os divisores de solo apresentam tamanhos e distância entre as canaletas variados, que são utilizados conforme o tamanho da semente, necessitando a escolha de um modelo correto. Outro problema é que esses divisores devem ser limpos com compressor de ar após a troca de cada amostra, com o intuito de impedir que as sementes fiquem alojadas entre as canaletas.

Por outro lado, os divisores Garmet apresentam como inconveniente uma distribuição desuniforme pelas duas bicas, o que pode contribuir para que a amostra seja não significativa. A limpeza do equipamento após a troca de amostras também se faz necessário.

Quanto ao teste de germinação, esse deve ser um ensaio muito criterioso, seguindo a normas previstas pela RAS e a utilização de metodologias não descritas devem ser validadas pelo órgão de acreditação.

Durante o processo de germinação de arroz (*Oriza sativa*), observou-se a presença de inúmeras sementes dormentes, o que posteriormente levaram à repetição do teste. A principal razão seria a colheita antecipada das sementes pelo produtor, mas ressalta-se que a dormência é uma característica presente em algumas cultivares, como as da EPAGRI. Como medida corretiva, o ideal seria, antes do teste de germinação, submeter a amostra à pré secagem e não somente usar esse artifício na reanálise.

A contaminação microbiológica em sementes pode em muitos casos tornar-se um limitante no processo de germinação. Em azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), observou-se a contaminação por inúmeros fungos endógenos, (por exemplo *Claviceps purpúrea*) os quais acabam afetando a germinação. A principal forma de minimizar esse risco é o controle desses fungos a campo, como no caso do *C. purpurea*, onde os danos ocorrem no período de florescimento, com presença do fungo nas inflorescências. Outros fungos menos agressivos só contaminam a semente durante o teste de germinação. Nestes casos, o uso de substrato areia em substituição ao papel germitest tem demonstrado resultados satisfatórios.

A análise de pureza é procedimento que deve ser conduzido de forma criteriosa. No caso do *L. multiflorum*, deve-se separar todas as sementes da inflorescência de modo que seja

possível identificar as sementes chochas na parte superior da panícula. Em sementes muito pequenas, como de fumo (*Nicotiana tabacum* L), torna-se primordial uma análise prudente e rápida, pois até mesmo o ar condicionado ligado ou a lâmpada da lupa podem gerar oscilações de temperatura, reduzindo a umidade do material e provocando variação no peso final.

Na análise de outras sementes por número, a principal dificuldade é identificar a presença de sementes daninhas na amostra. Em alguns casos o tamanho e formato são muito similares à cultura de interesse. Em trevo vesiculoso (*Trifolium vesiculosum*), as sementes se assemelham às de cuscuta (*Cuscuta* spp.), espécie que está na lista de sementes nocivas proibidas.

O teste de germinação de *H. sabdariffa* foi planejado e conduzido utilizando-se dados de trabalhos científicos, já que não existe protocolo disponível no manual da RAS. O substrato utilizado foi papel germitest (sobre papel), diferente do trabalho de Nascimento (2009) que utilizou rolo de papel. A escolha do papel germitest foi devido ao tamanho médio das sementes, aliado a recomendações na RAS para quiabo e outras espécies de hibisco.

A amostra 01 apresentou desenvolvimento insatisfatório, em torno de 0,3%, como pode ser observado na Tabela 1. Foi registrada alta contaminação por fungos saprófitos, e desenvolvimento quase nulo das plantas. Uma das razões seria o desenvolvimento inadequado das sementes, as quais não alcançaram ponto de maturação fisiológica. Outra hipótese seria a de que a temperatura de 40°C possa ter provocado danos à integridade da semente, retirando água do seu interior, responsável por desencadear reações químicas e enzimáticas. Houve diferença estatística entre a amostra 1 e 2 em ambas as temperaturas, entretanto não observou-se o mesmo comportamento nos tratamentos adotadas em cada amostra.

Contudo, os resultados obtidos indicam que a amostra 2 apresentou germinação em torno de 90%, dados bem acima do indicado no experimento de Nascimento (2009), mesmo o lote de sementes apresentando um ano de armazenamento. Outro dado relevante é que não foi feito pré-embebição em água, o que ainda se contrapõe à metodologia utilizada pelo autor.

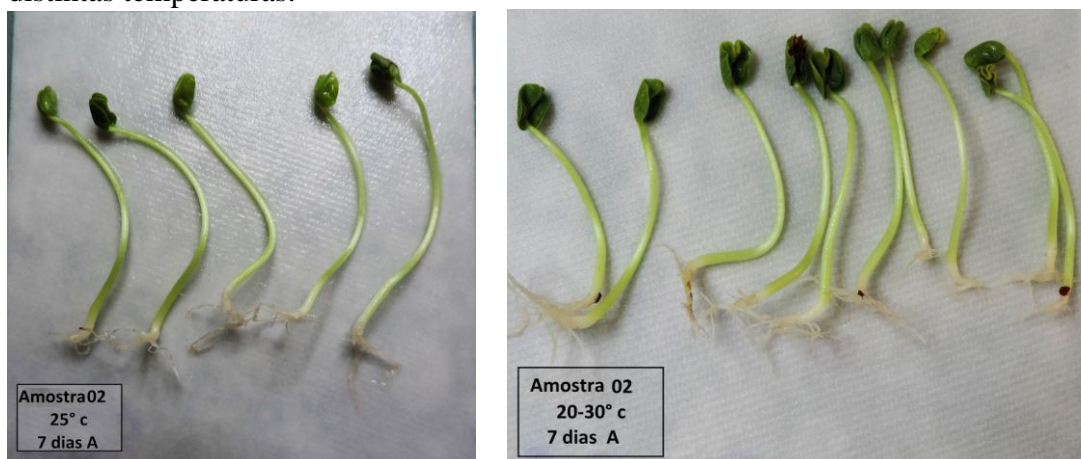
Tabela 1 - Resultados médios dos testes de germinação (%) de sementes de Hibisco em função das diferentes temperaturas.

Amostra	Temperatura	G (%)
1 (sementes secas a 40° C)	25 °C	0,5 A*
2 (sementes secas ao ambiente)	25 °C	90,75 B
1(sementes secas a 40° C)	20-30°C	0,25 A*
2 (sementes secas ao ambiente)	20-30°C	89,75

* Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

As temperaturas testadas parecem favoráveis ao desenvolvimento das sementes da cultura, não havendo diferença estatística entre as amostras. Houve um bom desenvolvimento de plântulas com poucas anormalidades identificadas, como pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 - Detalhes de plântulas de hibisco, 1ª avaliação aos sete dias do teste de germinação a distintas temperaturas.



Fotos: Machado JCR.

Notou-se uma diferença morfológica entre as plântulas submetidas às diferentes temperaturas, como pode ser visualizado na Figura 2. Aparentemente, a adoção da temperatura de 25°C propiciou melhor desempenho às plântulas, contudo essa afirmação não é conclusiva, já que para avaliar o vigor é necessário o cálculo do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) obtido a partir de avaliações diárias da germinação.

Figura 2 – Comparação do desenvolvimento de plântulas de hibisco sob diferentes temperaturas de germinação.



Fotos: Machado RCJ.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos ao final do estágio contribuem para futuras discussões sobre os principais limitantes nos processos de análises nos laboratórios de sementes. Como referido durante os trabalhos, essa é uma área sempre em processo de geração de conhecimentos e tecnologias, às quais os laboratórios precisam estar em constante atualização.

As maiorias dos pontos aqui abordados têm por trás um conhecimento teórico que explica e respalda os processos, entretanto, foram feitas algumas conjecturas que se opõem ao encontrado em outros trabalhos. Em um processo investigativo isso é natural e positivo, já que proporciona a busca contínua, pela experimentação, das respostas para problemas que surgem cotidianamente.

O estágio contribui em muito para a aprendizagem prática dos conteúdos teóricos aprendidos no Curso de Agronomia relativos à área de tecnologia de sementes, permitindo ao aluno apreciar a importância do papel do RT no gerenciamento de todas as etapas da avaliação de qualidade de sementes, bem como as oportunidades de atuação nesta área como engenheiro agrônomo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRASEM. Semente é tecnologia. **Revista AgroAnallysis**, São Paulo, v. 24, n. 3, p.31-37, 2014.
- AMARAL, A. S.; GONÇALO, J. F. P. Dormência em sementes de arroz. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 30, n. 301, p. 35-37, 1977.
- AMARO, H. T. R. et al. Avaliação fisiológica de sementes e crescimento de plântulas de vinagreira. **Comunicata Scientiae**, Janaúba, v.4, n.1, p. 96-102, 2013.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025:2005**: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. 2. Ed, Rio de Janeiro, 2005, 31p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**.1.Ed, Brasília, 2009, 399 p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York, Ed. Plenum Press, 1994, 445 p.
- DEMIR, I. Prediction of germination and vigour in naturally aged commercially available seed lots of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) using the bulk conductivity method. **Seed Science and Technology**, Ankara, v. 36, n. 3, p. 509-523, 2008.
- EICHELBERGER, L.; MAIA, M .S.; CAMACHO, J. C. B. Períodos de pré- esfriamento na superação da dormência de sementes de azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.). **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 212- 218, 2001.
- ESTEVES, G. L.; DUARTE, M. C.; TAKEUCHI, C. Sinopse de *Hibiscus* L. (Malvoideae, Malvaceae) do Estado de São Paulo, Brasil: espécies nativas e cultivadas ornamentais. **Hoehnea**, São Paulo, v.41, n.4, p.529-539, 2014.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 323 p. Incluí índice. ICBN 85-363-0383-2.
- FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Teste de tetrazólio e patologia de sementes como instrumentos fundamentais na produção de sementes de soja. **ANUÁRIO ABRASEM**, Brasília, p.16-18, 1990
- FRANCO, F. et al. Métodos para superação da dormência em sementes de arroz. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.50, n.430, p.11-15, 1997.
- GUIMARÃES, I. F. G.; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F.A. Métodos de superação de dormência para determinar o potencial germinativo de sementes de arroz. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 5, n. 1, p. 77-88, 2000.

HAMPTON, J. G. What is seed quality? **Seed Science and Technology**, New York, v. 30, n. 1, p. 1-10, 2002.

HARDIN, E. E.; COPELAND, L. O.; KNUDSON, L. A. A comparasion of the relative effectiveness of the Boener divider and several techniques of using the Garment precision divider. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Washington, v. 55, n. 1, p. 140-145, 1965.

LIBERAL, O. H. T. **Padrões de coloração para o teste de tetrazólio**. Londrina, 20. p, 2007. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/pdf/cirtec39_sementes.pdf>. Acesso em : 01/11/2016.

LOPES, A. C. A.; NASCIMENTO, W. N. **Amostragem de Sementes para Análise em Laboratório**. Brasília, 7.p, 2009. Disponível em: <https://pt-static.zdn.net/files/d39/85e3ca05f23229e0c337c73902825972.pdf>>. Acessado em 01/11/2016.

LUCCA-FILHO, O. A.; PORTO, M. D. M.; MAIA, M. S. Fungos em sementes de azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.) e seus efeitos no estabelecimento da pastagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 142-147, 1999.

MARCOS-FILHO, J. M. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: EdFEALQ, 2005. 495p. Incluí índice. ICBN 85-7133-038-7

MARTINS, E R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: Ed UFV, 2000. 220p.

MUKHTAR, M.A. The effect of feeding rosella (*Hibiscus sabdariffa*) seed on broiler chicks performance. **Research Journal Animal and Veterinary Science**, Cartum, v. 2, n. 2, p.21-23, 2007.

NASCIMENTO, W. M. **Tecnologia de Sementes de Hortaliças**. Brasília: Ed EMBRAPA, 2009. 432p. Incluí índice. ICBN 978-85-8641-15-5.

NOVEMBRE, A. D .L. C. Avaliação da qualidade de sementes. **SEED News**, Belo Horizonte, v. 5, n. 3, p .01, 2001.

OLIVEIRA, J. C.: FILHO, M. J. M. Métodos para obtenção de amostra de trabalho de sementes de Azevém-anual. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.5, n.1, p. 9 - 21, 1983.

SAMPAIO, N. V.; SAMPAIO, T. G.; PEREIRA, D. D. Metodologia para germinação de coentro (*Coriandrum sativum* L.) em laboratório de análise de sementes. **Revista Científica Rural**, Santa Maria, v. 2, n. 1, p. 8-19, 1997.

SMITH, H.; MORGAN, D. C. The function of phytochrome in nature. **Encyclopedia of Plant Physiology**, Berlin, v. 16, n. 1, p. 491-517, 1983.