



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CAMPUS DARCY RIBEIRO**

**HEWERTTON DENNYS GEBRIM RODRIGUES**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO**  
**TRATADAS COM ÁGUA OZONIZADA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (GRADUAÇÃO)**

**BRASÍLIA/DF**  
**JUNHO/2016**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CAMPUS DARCY RIBEIRO**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO**  
**TRATADAS COM ÁGUA OZONIZADA**

**HEWERTTON DENNYS GEBRIM RODRIGUES**

**ORIENTADORA: NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA**

**CO-ORIENTADOR: CHRISTIAN VITERBO MAXIMIANO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO  
SUBMETIDO À FACULDADE DE AGRONOMIA  
E MEDICINA VETERINÁRIA DA  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE  
DOS EQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO  
DO GRAU DE ENGENHEIRO AGRÔNOMO.

**BRASÍLIA/DF**  
**JUNHO/2016**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CAMPUS DARCY RIBEIRO**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO**  
**TRATADAS COM ÁGUA OZONIZADA**

**HEWERTTON DENNYS GEBRIM RODRIGUES**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO SUBMETIDO À FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE ENGENHEIRO AGRÔNOMO.

APROVADA POR:

---

NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA, DSc (UnB – FAV)

(ORIENTADORA)

---

ERNANDES RODRIGUES ALENCAR, DSc (UnB – FAV)  
(EXAMINADOR)

---

CHRISTIAN VITERBO MAXIMIANO, Aluno de Mestrado (UNB-FAV)  
(EXAMINADOR)

**BRASÍLIA/DF, 30 DE JUNHO DE 2016.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Hewertton Dennys Gebrim

Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas com água ozonizada . / Hewertton Dennys Gebrim Rodrigues; orientação de Nara Oliveira Silva Souza – Brasília, 2016.

40p.:il.

Trabalho de Conclusão de Curso Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

RODRIGUES, H. D. G. **Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas com água ozonizada.** Trabalho de Conclusão de Curso Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2016. 40p.

## CESSÃO DE CRÉDITOS

**NOME DO AUTOR:** Hewertton Dennys Gebrim Rodrigues

**TÍTULO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (GRADUAÇÃO):** Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas com água ozonizada. ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos.

---

Hewertton Dennys Gebrim Rodrigues

CPF:015.119.181-60

E-mail: hewerttondennys@gmail.com

“LEIS INALTERÁVEIS  
DA SEMEADURA E  
DA COLHEITA: ”

- 1- Você colhe o que planta
- 2- Você colhe aquilo que semeia
- 3- Você colhe onde semeia
- 4- Você colhe mais do que semeia
- 5- A colheita acontece no tempo certo;

Que o Senhor nos capacite a semear seu amor e tudo que o envolve, nos dê graça e sabedoria para aguardar a colheita, saber usufruí-la e compartilhá-la, em nome de JESUS! ”

(Autor Desconhecido)

## DEDICO

**À meus pais, Divino Pereira Rodrigues e Vanda Gebrim Rodrigues,** que sempre me orientaram, com força e dedicação, mostrando o melhor caminho e incentivando minha permanência na escola e universidade. Pelas orações, que me ajudaram a receber a graça de Deus em minhas conquistas.

**Às minhas Irmãs, Izabella e Anna Luiza,** minhas companheiras de vivências, que compartilharam comigo durante toda minha vida momentos felizes e inesquecíveis. Por me apoiarem na busca de conhecimentos e aceitarem minhas brincadeiras.

**À minha família,** por todo carinho e amor que tiveram por mim.

**Aos meus amigos,** que não são muitos, mas são únicos, que sempre estiveram comigo, me apoiando e dando força.

**A todos os meus professores,** que durante minha vida foram incentivadores, mestres que serviram de inspiração para me tornar uma pessoa competente e que colaboraram para que minha formação profissional fosse o mais completa possível.

## AGRADEÇO

**A Deus**, por iluminar minha vida, proporcionando-me os momentos de inteligência, fé e bênçãos, ajudando-me a crescer em graça e sabedoria.

**A meu pai e minha mãe**, a base do meu ser, que sempre me deram todo o amor, apoio, educação que eu precisei, sendo o combustível de todos os meus sonhos. Moldaram meu caráter e foram responsáveis por todas as minhas conquistas.

**À professora Nara**, professora inigualável, soube compartilhar seu conhecimento e sua sabedoria, tendo grande importância em minha formação profissional. Por toda a ajuda e dedicação oferecida, por me ajudar a definir meus caminhos e ter certeza dos meus objetivos profissionais.

**Ao Professor Jorge Luiz Marinho**, “o cara”, que tive a honra e enorme satisfação de ter sido seu aluno e chamá-lo de mestre, meu professor. Foi minha força, meu amigo, meu orientador no momento em que mais precisei, compartilhando seus conhecimentos, tendo grande importância na minha formação, durante o tempo que estudei no Colégio Militar de Brasília.

**A todos os meus amigos**, que me apoiaram, se tornando amigos verdadeiros, dando-me força, ajudando-me nos momentos difíceis e compartilhando conquistas e momentos felizes.

**A todos os professores da Universidade de Brasília** por me proporcionar não apenas o conhecimento científico, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional.

**Ao Christian Viterbo e a Flívia Fernandes**, que me apoiaram na reta final de meu curso, contribuindo para minha formação, compartilhando seus conhecimentos e por toda a ajuda e dedicação oferecida.

**As minhas irmãs, tias e primos** que me ensinaram através de sua resistência e força de vontade, a ser forte e não desistir facilmente.

A todos, muito obrigado!

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Aspectos gerais da cultura do milho .....	3
2.1.1 Cenário Econômico.....	4
2.2 Qualidade fisiológica de sementes de milho.....	5
2.2.1 Teste padrão de germinação.....	6
2.2.2 Teste de vigor.....	7
2.3 Fungo em sementes de milho e seu controle.....	10
2.4 Uso do gás ozônio.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
3.1 Sementes utilizadas .....	15
3.2 Análises laboratoriais .....	15
3.2.1 Obtenção do gás ozônio .....	15
3.2.2 Exposição das sementes ao gás ozônio diluída em água.....;	16
3.2.3 Testes de qualidade fisiológica.....	17
3.2.3.1 Teste padrão de germinação (TPG).....	17
3.2.3.2 Teste de condutividade elétrica .....	18
3.3 Avaliações em campo.....	18
3.3.1 Teste de emergência de plântula em campo .....	18
3.3.2 Altura da planta .....	19
3.4 Delineamento experimental e análise estatística .....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5 CONCLUSÕES .....	26
6 REFERÊNCIAS .....	27



## Lista de Ilustrações

Figura 1 – Equipamento gerador de ozônio e exposição das sementes á água ozonizada, UNB, Brasília, DF, Brasil, 2016.-----	15
Figura 2 – Teste padrão de germinação, UNB, Brasília, DF, Brasil, 2016.-----	17
Tabela 1. Análise de variância de características da qualidade fisiológicas em sementes de milho.-----	19
Tabela 2. Valores médios obtidos para emergência em campo considerando o fator concentração. -----	20
Tabela 3. Interação entre os fatores concentração e período de exposição na qualidade fisiológica do milho. -----	21
Tabela 4. Valores médios obtidos no teste de condutividade elétrica em milho considerando a interação entre fatores e testemunha. -----	23

## RESUMO

O ozônio (O<sub>3</sub>) é um poderoso agente oxidante que pode ser gerado no local, através de um processo de descarga elétrica. A água ozonizada tem se mostrado uma alternativa promissora em substituição aos agentes químicos no controle de fungos, apresentando alta eficiência a baixas concentrações, em um período curto de contato e sem formação de produtos tóxicos, pois é altamente reativa e não deixa resíduos na semente. Contudo não se tem informações se este tipo de tratamento compromete a qualidade fisiológica das sementes de milho. O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho ozonizado em água. Sementes de milho, foram submetidos a quatro concentrações de gás ozônio, 0 mg/L<sup>-1</sup> (A), 10 mg/L<sup>-1</sup> (B) e 20 mg/L<sup>-1</sup> (C), 30 mg/L<sup>-1</sup> (D) e quatro períodos de exposição, 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 horas, formando um fatorial 4 (concentrações) x 4 (períodos de exposição), totalizando 16 tratamentos juntamente com a testemunha sem nenhum tipo de tratamento, dispostos no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições nos testes de laboratório e nos de campo em bloco casualizados. As sementes foram avaliadas através dos seguintes testes: germinação (TPG); emergência em campo (EC), condutividade elétrica (CE) e altura de planta. Nas ANAVAs observa-se que para o fator período de exposição não foi observado diferença significativa entre os testes realizados. No teste padrão de germinação (TPG) houve diferença significativa no fator concentração x período de exposição. No teste de emergência em campo (EC), observou-se diferença significativa no fator concentração, no teste de condutividade elétrica (CE), houve diferença significativa nos fatores concentração x período de exposição e interação fatores x testemunha e na altura da planta, houve diferença significativa apenas na interação entre os fatores concentração período de exposição. Nesse estudo, o uso da água ozonizada em milho não afetou negativamente a qualidade fisiológica da semente.

**Palavras-Chave:** Ozonização, água, *Zea mays* L. , germinação, vigor

## 1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das culturas de maior destaque no panorama econômico brasileiro, sendo que entre os cereais é o mais produzido no país. O grão possui alto valor nutritivo sendo muito empregado na alimentação humana, e principalmente, animal. O fato dos sistemas de produção serem extremamente competitivos resulta em um produto final de alto valor agregado e elevada qualidade.

A qualidade da semente pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de originar plantas com maior produtividade. Os quatro componentes básicos da qualidade das sementes são de importância equivalente, mas o potencial fisiológico geralmente tem sido considerado com atenção especial da pesquisa (MARCOS FILHO, 2005).

A qualidade sanitária das sementes é de fundamental importância, pois sementes contaminadas podem reduzir a população de plantas e a produtividade e, também, servir como veículo de disseminação de patógenos (ANDRADE; BORBA, 1993; CASA et al., 1998a). Muitos fungos veiculados pela semente de milho podem ser transmitidos às plântulas (McGEE, 1988). Analisando a sanidade de dezenas de lotes de sementes de milho, Reis e Casa (2004) observaram que os fungos de maior frequência (acima de 90%) foram *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.

A prática do uso de fungicidas para tratamento de sementes de milho tem sido ainda, a mais empregada pelos agricultores. Uma alternativa recente que vem sendo apresentada como um potencial controlador de fungos em sementes é o uso do gás ozônio ou da água ozonizada. O seu uso no controle de fungos em grãos ou sementes já foi verificado em diversos trabalhos (HSIEH et al., 1998; CICCARESE et al., 2007; ABDEL-WAHHAB et al., 2011; EL-DESOUKY et al 2012; MARIQUE et al., 2012; BEBER-RODRIGUES, 2013; SAHAB et al., 2013; LUO et al., 2014; SAVI et al., 2014). Resta saber se o seu efeito não afeta a qualidade fisiológica das sementes bem como o desenvolvimento da cultura.

O ozônio (O<sub>3</sub>) é um poderoso agente oxidante que pode ser gerado no local, através de um processo de descarga elétrica (KIM et al., 1999); desta forma, sua utilização se torna atraente no controle de insetos e fungos em grãos armazenados, pelo fato de descartar a necessidade de manipulação, armazenamento ou eliminação dos recipientes de produtos químicos e, ainda, em virtude de possuir uma meia vida curta e de seu produto de degradação ser o oxigênio (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003).

O ozônio dissolvido em água constitui outra opção alternativa em substituição aos agentes químicos tradicionais, apresentando alta eficiência a baixas concentrações, em um período curto de contato e sem formação de produtos tóxicos, pois é altamente reativo e não deixa resíduos na semente.

Ainda não se tem informação se a água ozonizada afeta a qualidade fisiológica de sementes de milho. Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho após o tratamento com água ozonizada.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos gerais da cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta que pertence à família Gramineae/Poaceae (MAGALHÃES et al., 1995), este cereal tem grande importância em nível mundial, pois é uma das principais fontes de alimento exploradas pelo homem desde a sua descoberta na América e disseminação pelo mundo (SILVA;CARVALHO, 2000).

O milho pode ser considerado uma granífera global, sendo pesquisado em diferentes países do mundo. Este é um dos fatores que explicam o seu sucesso em termos de produção, pois apresenta fácil adaptação a diversas regiões, sendo possível alcançar safras de sucesso da coordenada 58° norte (União Soviética) até 40° sul (Argentina) e em altitudes que variam do nível do mar a 4.000m (EMBRAPA, 1996; MAGALHÃES et al., 1995).

Segundo Coelho & França (1995), o milho é considerado uma planta de dia curto, ou seja, floresce quando a duração da noite (período sem luz) é maior ou igual que o fotoperíodo crítico. O período de crescimento e desenvolvimento do milho é limitado pela água, temperatura e radiação solar ou luminosidade. A cultura do milho necessita que os índices dos fatores climáticos, especialmente a temperatura, a precipitação pluviométrica e o fotoperíodo, atinjam níveis considerados ótimos, para que o seu potencial genético de produção se expresse ao máximo (COUTO et al. 2003).

A produtividade do milho está relacionada principalmente a dois conjuntos de fatores: os ambientais e os genéticos (RESENDE et al., 2003). Os ambientais dizem respeito à temperatura, fotoperíodo, disponibilidade hídrica, características físicas e químicas do solo, etc. Em relação aos fatores genéticos vale destacar a resistência a pragas, doenças e estresse hídrico, precocidade do ciclo, arquitetura da planta, etc.

A temperatura ideal para o desenvolvimento do milho, da emergência à floração, varia de 23°C a 30°C. Das fases que compreendem o espigamento à colheita do grão, a temperatura não exerce muito eficácia, porém, pode haver um retardamento da maturação da planta se houver uma queda muito profunda de temperatura. De acordo com as pesquisas, uma redução de 30 a 40% da luminosidade, pode causar efeitos diretamente no ciclo e também queda no potencial produtivo.

Quanto à necessidade hídrica, milho é uma cultura muito exigente em água. A quantidade de água consumida pela planta, durante seu ciclo está em torno de 600 mm. O consumo de água pela planta, nos estádios iniciais de crescimento, num clima quente e seco, raramente excede 2,5 mm/dia. Durante o período compreendido entre o espigamento e a

maturação, o consumo pode se elevar para 5 a 7,5 mm diários. Mas se a temperatura estiver muito elevada e a umidade do ar muito baixa, o consumo poderá chegar até 10 mm/dia (ALBUQUERQUE; ANDRADE et al., 2001; EMBRAPA, 2010 ).

Morfologicamente, a semente é idêntica ao grão comercial, entretanto, semente é aquela produzida com finalidade de plantio, sob cuidados especiais. Além de um amplo e exigente sistema de controle interno de qualidade por parte das empresas produtoras, o processo de produção de sementes de qualidade, obedece a leis e normas estabelecidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e outros mecanismos reguladores, os quais determinam padrões mínimos de qualidade e controle do processo produtivo a fim de se garantir uma produção certificada de sementes (ABRASEM, 2014).

### **2.1.1 Cenário econômico**

O milho, sem dúvida, é o cereal mais produzido e consumido no mundo, como insumo principal na produção de proteína animal, na alimentação humana e, também, na produção de biocombustíveis (CONAB, 2016 ). De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a tendência é de a produção aumentar na próxima safra. Tal aumento é um dos principais fatores que impulsionam a produção de milho no mundo. Os Estados Unidos é o maior produtor e consumidor de milho, responsável por 35,3% da produção e 31 % do consumo mundial. De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a produção mundial de milho estimada para safra 2015/2016 é de 985,6 milhões de toneladas, obtendo um pequeno recuo em relação à safra 2014/2015, que foi de 1.006,2 bilhões de toneladas (USDA, 2016).

O Brasil ganha destaque no âmbito mundial ocupando o terceiro lugar de maior produtor mundial de grãos de milho. Os Estados Unidos lideram e a China que vem em segundo lugar (DEAGRO, 2016). No Brasil, ocorreu uma diminuição da área plantada de milho, devido às condições climáticas desfavoráveis na safra 2015/2016 (CONAB, 2016). A área cultivada no país é de 15,4 milhões de hectares para a safra de 2015/2016. Este valor é 1,4% menor que na safra anterior, ou 226,3 mil hectares. Na Safra 2014/2015 a produção nacional foi de 84,6 milhões de toneladas, já em 2015/2016 obteve-se uma diminuição de aproximadamente 1,4% sendo produzidas 83,5 milhões de toneladas (CONAB, 2016).

Além disso, o Brasil já se consolidou como um grande exportador de milho. Na safra de 2014/2015 exportou 26,4 milhões de toneladas e os Estados Unidos exportou 46,9 milhões de toneladas. Já na safra de 2015/2016 o Brasil exportou 28 milhões de toneladas, evoluindo quase dois milhões de toneladas (CONAB, 2016).

O País possui uma vantagem em relação aos demais, pelo fato de possuir um espaço geográfico favorável para plantio de grãos. Segundo Sousa & Lobato (2002) é uma das gramíneas mais cultivadas na área do Cerrado. O Cerrado é responsável por ocupar cerca de 20% do território brasileiro (MALAVOLTA et al., 2002). É o maior bioma do Brasil, só ficando atrás da Mata Amazônica, com 204 milhões de hectares (SOUZA; LOBATO, 2002). De acordo com o atual panorama está claro que o Cerrado pode ser considerado o celeiro do mundo, pois possui um grande potencial para o plantio de milho.

Com esse cenário, a tendência é o aumento da produção, principalmente de grãos de soja e milho, obtido mediante investimentos em novas tecnologias de plantio e colheita, além do uso de variedades mais produtivas, o que tem tornado o País um dos maiores produtores de grãos no mundo. Atualmente, no Brasil, são comuns patamares de produtividade de milho acima de 10.000 quilos por hectare (SANTOS, 2014).

## **2.2 Qualidade fisiológica de sementes de milho**

A semente é um dos principais insumos da agricultura que contém o potencial genético da espécie, o que pode proporcionar a obtenção de alto rendimento da cultura. Para que ela possa expressar todo o seu potencial genético, é necessário que apresente boa qualidade fisiológica e sanitária. A qualidade fisiológica da semente é avaliada por duas características fundamentais: germinação e vigor (POPINIGIS, 1977). Ainda segundo POPINIGIS (1977), o conjunto dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários influencia na capacidade de originar plantas com maior produtividade. Tais atributos que, no campo com condições favoráveis conferem qualidade da semente. A alta qualidade da semente reflete diretamente no resultado final da cultura, em termos de ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas, da maior produtividade e de uniformidade da população (POPINIGIS, 1977, BRACCINI et al., 1999; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

A emergência rápida e uniforme e o consequente estabelecimento de estande constituído por plântulas vigorosas do cultivar escolhido pelo produtor representam condições imprescindíveis para assegurar o desempenho adequado das plantas, podendo alterar a uniformidade do desenvolvimento, o rendimento final da cultura e a qualidade do produto. A expressão “qualidade de sementes” é a mais adequada, pois engloba o valor como um todo de um lote de sementes para atender o principal objetivo de sua utilização (MARCOS FILHO, 2005).

Existem métodos padrões de avaliação da qualidade fisiológica, como testes de

germinação, que são reconhecidos pelas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009) e também testes de vigor (não padronizados). A germinação pode ser simplificada em processos iniciais como: embebição da semente e ativação do metabolismo, seguido do rompimento do tegumento, da emissão da radícula e do crescimento da plântula (PRISCO et al., 1981). O vigor da semente é a sua capacidade de apresentar desempenho adequado sob diferentes condições de ambiente (MARCOS FILHO, 1994), sendo objetivo do teste de vigor avaliar ou detectar diferenças na qualidade de lotes com germinação semelhante, complementando as informações fornecidas pelo teste de germinação, distinguindo, com segurança, lotes de alto e de baixo vigor (MARCOS FILHO, 1999).

O teste de germinação possui limitações por fornecer resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes, devido ao fato de ser conduzido sob condições ideais e artificiais. No entanto, as condições adversas como umidade do solo, clima, competição, entre outras, podem impor uma desuniformidade entre o teste de germinação e os resultados de campo (HILHORST et al., 2001). Portanto, esse teste, aplicado isoladamente, muitas vezes não é eficiente para prever o comportamento das sementes no campo (BYRUM; COPELAND, 1995).

Por isso, para análise da qualidade de sementes, há necessidade de complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação com testes de vigor, os quais possibilitam selecionar os melhores lotes para comercialização (DIAS et al., 2006).

### **2.2.1 Teste padrão de germinação**

O controle de qualidade de sementes deve ser cada vez mais eficiente, em razão da competitividade e exigência do mercado. Avaliações rápidas que permitam obtenção de informações sobre o potencial fisiológico de sementes são importantes para tomadas de decisões nas diferentes etapas do processo de produção, armazenamento e comercialização. Dessa maneira, o controle de qualidade envolve, dentre outras atividades, a avaliação da germinação e do vigor de sementes (FESSEL et al., 2010).

A qualidade fisiológica das sementes é comumente avaliada pelo teste de germinação, porém esse teste fornece condições favoráveis ao processo, o que possibilita que o lote expresse sua máxima germinação nessa condição. Os resultados do teste de germinação assumem importância nas pesquisas feitas com sementes, pois são utilizados para comparar a qualidade fisiológica de lotes, determinar a taxa de semeadura e servir como parâmetro de comercialização de sementes (KRZYZANOWSKI et al., 1999).



Em 1950 o pesquisador W. J. Franck, presidente da International Seed Testing Association (ISTA) na época, apresentou uma proposta para que os testes conduzidos em substratos artificiais e condições ótimas fossem denominados testes de germinação e que seus resultados fossem oficializados como parâmetros balizadores dos padrões de sementes para comercialização. E os testes conduzidos em solo deveriam ser chamados testes de vigor (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Segundo McDonald (1993), este teste apresenta uma grande evolução de vários anos de pesquisa e pode ser usado seguramente para ser um dos critérios de avaliação de qualidade fisiológica em semente, gerando dados de aceitável reprodutibilidade e de alta confiabilidade nos resultados obtidos.

No teste de germinação a instalação, condução e avaliação são feitas em laboratório, seguindo uma metodologia padronizada, sob condições artificiais controladas, altamente favoráveis, para que se obtenha a maior porcentagem de germinação no menor tempo possível.

O teste padrão de germinação é exigido pela Legislação Brasileira para comercialização de sementes, sendo que para híbridos de milho, categorias de sementes C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, S<sub>1</sub> e S<sub>2</sub>, o valor mínimo de germinação é 85% (BRASIL, 2013).

### **2.2.2 Testes de vigor**

Para complementar as informações do teste de germinação criou-se o conceito de vigor. Vários testes de vigor foram então desenvolvidos procurando precisar o comportamento de lotes de sementes em campo com dados obtidos em laboratório (MCDONALD JUNIOR; WILSON, 1979).

Existem diversos conceitos a respeito do significado de vigor, de acordo com Carvalho (1986), o vigor da semente tem que ser entendido como o nível de energia que uma semente dispõe para realizar as tarefas do processo germinativo. Já para Woodstock (1965), vigor é o estado de boa saúde e robustez natural das sementes que permite a germinação rápida e completa sob uma larga faixa de condições do ambiente. Pode-se concluir que vigor está ligado ao potencial que a semente tem no campo, quando submetida às condições do ambiente, para crescer e desenvolver de forma vigorosa.

Segundo Marcos Filho (2005) o vigor é influenciado por diversos agentes, como por exemplo, o ataque de pragas e doenças, o genótipo, as condições climáticas, favoráveis ou não, que ocorrem durante o ciclo de desenvolvimento da semente e até mesmo fatores que derivam antes da sua formação, que pode ser exemplificado pela nutrição da planta mãe que a originou.

O genótipo é um importante fator relacionado ao vigor, pois é constituído de características inseridas por melhoristas na base de formação da semente, que vai influenciar na germinação. Várias características estão relacionadas com o máximo potencial de qualidade das sementes (germinação, emergência e vigor), porém, para Prete & Guerra (1999), o genótipo é o mais primordial desses.

A ISTA (1999) define vigor como um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de sementes de alta germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento no ambiente. Já para Carvalho (1986), o vigor da semente pode ser resumido como a força de energia biológica que a semente possui para iniciar o seu processo germinativo, isto é vencer a dormência ou a quiescência, as condições ideais ou não edafoclimáticas e desenvolver a sua condição de semente para plântula.

Existe uma grande dificuldade de se chegar ao significado de vigor, devido a sua multiplicidade e abrangência das propriedades. Contudo, as pluralidades dos conceitos convergem para um tema comum, que é a capacidade da planta de vencer, ter força, para germinar, mesmo sob condições adversas e apresentar melhores condições no campo.

O objetivo básico dos testes de vigor é avaliar ou detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica, que não percebidos no teste de germinação e separar ou classificar lotes em diferentes níveis de vigor (MARCOS FILHO, 1999). Os testes de vigor permitem identificar os lotes com maior ou menor probabilidade de apresentar melhor desempenho no campo ou durante o armazenamento (MARTINS et al., 2002). Este tipo de informação permite o produtor ou a empresa de semente, tomar decisões em relação ao destino do lote de semente, ou mesmo decidir se armazena ou não a semente.

Os métodos para a avaliação do vigor podem ser classificados em diretos, quando realizados no campo ou em condições de laboratório que simulem fatores adversos de campo; ou indiretos, quando realizados em laboratório, mas avaliando as características físicas, fisiológicas e bioquímicas que expressam a qualidade das sementes (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

Dentre os vários testes, as empresas produtoras de milho utilizam com mais rotina, os testes de emergência de plântulas em campo, teste de frio e envelhecimento acelerado, sendo estes testes de vigor, considerados fundamentais para o gerenciamento da produção (CASEIRO; MARCOS FILHO, 2002). De acordo com Durães (1994), o vigor da semente de milho afeta consistentemente a população de plantas, o crescimento vegetativo e o acúmulo de matéria seca nos estádios iniciais.

São considerados eficientes os testes que permitem separar os lotes em diferentes categorias de vigor, principalmente quando possuem germinação equivalente, desde que essas informações correspondam ao mesmo grau de separação proporcionado pela emergência das plântulas em campo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Portanto, a escolha do método leva em consideração quesitos como rapidez, objetividade, simplicidade, economia e reprodutibilidade, obtendo resultados confiáveis para a tomada de decisão durante a etapa do processo de produção de sementes.

Dentre esses vários procedimentos, o teste de envelhecimento acelerado é muito utilizados no Brasil e no mundo, particularmente para sementes de milho e soja (HAMPTON; TEKRONY, 1995; MARCOS FILHO, 1999). O teste de envelhecimento tem como base o fato de que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente pela sua exposição a níveis muito adversos de temperatura e umidade relativa (MARCOS FILHO, 1994). Nessas condições, sementes de menor qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, com reflexos na germinação após o período de envelhecimento acelerado (TORRES; MARCOS FILHO, 2001).

O teste de frio, que tem como princípio básico a exposição das sementes a baixa temperatura, alta umidade e agentes patogênicos (quando se utiliza terra procedente de áreas de cultivo da espécie), pode funcionar como instrumento de grande valor para a seleção prévia de lotes de sementes, quanto ao seu desempenho, em uma ampla faixa de condições ambientais. De forma geral, se os resultados do teste de frio se aproximarem dos obtidos no teste padrão de germinação, há grande possibilidade de esse lote apresentar capacidade para germinar sob ampla variação das condições de umidade e temperatura do solo (CICERO; VIEIRA, 1994).

Os testes de massa seca e comprimento de plântulas partem do pressuposto, assim como o de velocidade de germinação, que sementes mais vigorosas originarão plântulas com maiores taxas de desenvolvimento e ganho de massa. Isso porque sementes com alto vigor apresentam maior capacidade de transformação dos tecidos, ou seja, rápida degradação das reservas dos tecidos de armazenamento para utilização destes na composição e formação do eixo embrionário (DAN et al., 1987).

Um outro teste muito comum para determinar o vigor de um lote de sementes é o teste de condutividade elétrica da solução de embebição de sementes. A perda de eletrólitos das sementes para a água de embebição pode ser detectada avaliando-se a condutividade elétrica desses lixiviados (POWELL, 1986). O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que, com o processo de deterioração, ocorre aumento da lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água, devido à perda da integridade dos sistemas de membranas

celulares (HEPBURN et al., 1984; BRANDÃO JUNIOR, 1996;). Assim, considera-se o vigor das sementes inversamente proporcional à leitura da condutividade elétrica (VIEIRA, 1994; VIEIRA; KRYZANOWSKI, 1999).

Portanto, para a escolha de qual ou quais os testes a se utilizar para avaliação do vigor, devem ser considerados aqueles métodos rápidos e eficientes, que representem o potencial de emergência em condições de campo e que auxiliem principalmente na tomada de decisão quanto ao manuseio, descarte e comercialização das sementes produzidas (BITTENCOURT et al., 2012).

### **2.3 Fungo em sementes de milho e seu controle**

Segundo Neegard (1977), as sementes são um dos meios mais eficientes de disseminação de patógenos, pois por meio delas podem ser transportados às longas distancias e introduzidos em áreas novas. Entre os fungos que interferem na qualidade da semente a *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton, a *S. macrospora* (Earle) Sutton, o *Fusarium graminearum* Schwabe (*Gibberella zae* Schw.) e *F. verticillioides* (*Gibberella fujikuroi* Sawada) são citados como os principais patógenos (SHURTLEFF, 1992; FERNANDES; OLIVEIRA, 1997; REIS et al., 2004). A incidência desses fungos normalmente ocorre pela infecção da espiga, favorecida por chuva no florescimento, mau empalhamento e por injúrias causadas por insetos nas espigas (SHURTLEFF, 1992; REIS et al., 1995).

O fungo *F. verticillioides* é o patógeno mais frequente detectado em sementes de milho no Brasil (REIS et al., 1995; PINTO, 1997; REIS; CASA, 1996; CASA et al., 2004). Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* têm sido detectados em menor frequência de ocorrência (CASA et al., 1998a; 2004). No sul do Brasil o fungo *F. graminearum* tem sido mais frequente, devido os cereais de inverno serem hospedeiros alternativos (CASA et al., 2006).

Goulart & Fialho (1994) e Pinto (1997) observaram que os principais fungos que infectam as sementes de milho em condições de armazenamento são *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.

Entre as estratégias que podem ser empregadas para o controle de doenças causadas por fungos associados às sementes de milho destacam-se o uso de sementes sadias e o tratamento de sementes com fungicidas (REIS et al., 2004; PEREIRA et al., 2005).

O tratamento de sementes com fungicida tem como propósito reduzir e/ou erradicar o inóculo dos patógenos presentes na semente e protegê-las dos patógenos habitantes do solo durante a germinação, garantindo a emergência das plântulas em condições adversas de semeadura (PINTO, 1998; CASA et al., 2006). Outra finalidade é evitar a transmissão do fungo

da semente para a plântula. Assim, o tratamento de sementes deve apresentar uma eficiência que erradique ou reduza, abaixo do limiar de transmissão, evitando a introdução ou aumento da intensidade de algumas doenças no campo (REIS et al., 2004). Para REIS & CASA (1998) a erradicação de patógenos em sementes é uma tarefa difícil e poucos avanços ou sucessos foram obtidos, pois para que o tratamento seja efetivo, o fungicida deve ser capaz de eliminar a infecção interna da semente sem injuriar os tecidos e não afetar a germinação.

As sementes de milho são comercializadas tratadas, no entanto, a eficácia do tratamento comercial de sementes no Brasil não tem sido satisfatória e não está atingindo a erradicação dos fungos (CASA et al., 1998a; 2005).

Quando o controle erradicante não é alcançado, mesmo que o fungo causador da doença não interfira na população de plantas, existe a possibilidade da transmissão sistêmica na planta, como ocorre comumente com *F. verticillioides* em milho (FOLEY, 1962; MUNKVOLD et al., 1997; SARTORI, 2003).

Trabalhos realizados em laboratórios têm demonstrado que a eficiência de controle de fungicidas é maior em amostras de sementes com baixa incidência de patógenos (REIS; CASA, 2001). A eficiência no controle do complexo de fungos associados as sementes de milho tem sido melhorada pelo uso da mistura de fungicidas, pela melhora na qualidade do tratamento, pelo uso de sementes com menor incidência de fungos (semente de milho híbrido produzida em lavoura com rotação de cultura) e pelo menor grau de índice de injúria-mecânica visível (CASA et al., 1995; REIS et al., 1995; PINTO, 1998; CASA et al., 1998b; SEVERO, 1999).

No Brasil, a erradicação de patógenos veiculados pelas sementes, tem sido pouco pesquisada, por isso a maior parte dos tratamentos de sementes recomendados alcança um controle inferior a 100% (REIS et al., 2007).

Uma alternativa para controle de fungos em grãos e sementes que vem sendo pesquisada é o gás ozônio. Contudo é necessário que sejam feitas pesquisas para verificar se esse gás afeta a qualidade fisiológica em sementes e portanto, se é uma alternativa viável no controle de fungos.

## **2.4 Uso do gás ozônio**

O gás ozônio (O<sub>3</sub>), ou oxigênio triatômico, é uma forma alotrópica do oxigênio, que pode ser produzida naturalmente como resultado de relâmpagos ou radiação ultravioleta (KIM et al., 1999). A primeira desinfecção em escala comercial com ozônio foi feita em água potável na França, em 1906 (GRAHAM, 1997). Embora a tecnologia de uso de ozônio exista há muito tempo, o ozônio ganhou evidência somente recentemente, como uma solução alternativa para

as preocupações com a saúde humana e problemas ambientais, com um futuro promissor e o crescente uso em sistemas agroindustriais (NOVAK; YUAN, 2007). Um dos primeiros equipamentos criados para a produção de gás ozônio, baseado no efeito corona, foi desenvolvido na Alemanha, no ano de 1857, por Siemens (RUBIN, 2003; OLIVEIRA; WOSHC, 2012).

O gás (O<sub>3</sub>) é um poderoso agente oxidante que possui a vantagem de ser gerado no local, através de um processo de descarga elétrica, evitando gastos com transporte (Kim et al., 1999); assim, sua utilização se torna viável no controle de insetos e fungos, pelo fato de descartar a necessidade de manipulação, armazenamento ou eliminação dos recipientes de produtos químicos e, ainda, em virtude de possuir uma meia vida curta e de seu produto de degradação ser o oxigênio (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003). O uso do ozônio é vantajoso, pois ele não forma resíduos que sejam nocivos à saúde humana e animal, além de não alterar a composição nutricional de alimentos (KIM et al., 2003; MENDEZ et al., 2003; YOUNG et al., 2006).

A maioria dos microrganismos patogênicos é suscetível aos efeitos do ozônio, onde o mesmo tem atuação na oxidação das membranas celulares (KIM et al., 1999). Estudos comprovam, que em produtos agrícolas o gás ozônio inibe ou retarda o desenvolvimento de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Geotrichum*, *Myrothecium* e *Mucor*, dentre outros (RAILA et al., 2006; WU et al., 2006), além de outros microorganismos, como vírus e bactérias (KIM et al., 1999; KHADRE et al., 2001; AGUAYO et al., 2006; ÖZTEKIN et al., 2006; WHANGCHAI et al., 2006).

O ozônio dissolvido em água constitui outra opção promissora no controle de microrganismos, sendo parcialmente solúvel em água, relativamente instável e decompondo-se facilmente na forma de oxigênio molecular, onde como a maioria dos outros gases, aumenta a sua solubilidade à medida que a temperatura decresce ou a mistura é pressurizada (Lei de Henry) (HSIEH et al. 1998).

Em Pesquisas feitas por Hsieh et al. (1998), o uso do ozônio saturado em água inibiu a germinação dos esporos de fungos em sementes de gramínea, sendo necessário 10, 13 e 30 min, respectivamente para eliminar os conídios de *Bipolaris australiensis*, *Curvularia pallescens* e *Exserohilum rostratum*. O vigor de crescimento de mudas, no entanto, foi aparentemente melhor a partir de sementes tratadas com água ozonizada.

Um dos problemas que pode ser citado sobre o ozônio, é que ele pode reagir com muitos compostos orgânicos presentes em alimentos, resultando na sua auto degradação e reduzindo a sua eficiência biocida (KHADRE et al., 2001).

Nos últimos anos, a utilização do ozônio tem-se expandido de forma considerável, nacional e internacionalmente, em diferentes áreas de aplicação, como no tratamento de água potável e processos de branqueamento de celulose, entre outros, além de seu uso estar se devolvendo no setor agrícola, com aprovação da FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos, para esta finalidade (RICE; GRAHAM, 2002).

El-Desouky et al. (2012) trabalhando com *Triticum aestivum*, testou duas concentrações de ozônio (20 e 40 ppm) e quatro períodos de exposição (5, 10, 15 e 20 minutos). Concluiu que a concentração de 40ppm durante 20 minutos pode ser um método eficaz para o controle de *Aspergillus flavus* em grãos de trigo.

Abdel-Wahhab et al. (2011) estudou o efeito do gás ozônio no controle de fungos e aflatoxinas em amendoim. Foram usadas as concentrações de 20 ppm por 5 minutos, 40 ppm por 10 minutos e 50 ppm por 5 minutos. A exposição ao O<sub>3</sub> gasoso foi eficaz para reduzir a contagem total de fungos e conseguiu eliminar *A. flavus* nas amostras. A concentração de 40 ppm por 10 minutos conseguiu degradar aflatoxina em sementes de amendoim e alcançar o padrão exigido na Legislação Egípcia.

Ainda trabalhando com amendoim, Sahab et al. (2013) verificaram que a exposição a 40 ppm de O<sub>3</sub> durante 10 minutos degrada significativamente aflatoxinas não interferindo no teor de gorduras e proteínas, podendo ser utilizado eficazmente para a descontaminação de sementes de amendoim contaminados com aflatoxinas.

Em um trabalho com sementes de trigo, ervilha e cevada, em que foi aplicado ozônio (3% por peso) em três períodos de exposição (1, 1,5 e 3 minutos) para desinfecção das sementes, foi observado que o maior período de exposição foi mais eficiente na desinfecção de sementes sem influenciar na germinação (CICCARESE et al., 2007).

Violleau et al. (2007) com sementes de milho, realizaram o tratamento com oxigênio puro ([O<sub>3</sub>] = 0 g / m<sup>3</sup>) e ozônio ([O<sub>3</sub>] = 20 g / m<sup>3</sup>) durante 6, 8 ou 20,5 minutos. Avaliou-se comprimento de plântula e raiz, após 3, 4 e 5 dias. Observou-se que as sementes tratadas com ozônio apresentaram maiores medias e teve um inicio mais rápido de germinação e com comprimento maior de raiz. No entanto um tempo maior de exposição ao ozonio reduziu a taxa de germinação.

Savi et al. (2014) verificaram em sementes de trigo, que o gás O<sub>3</sub> foi eficiente no controle de fungos e proporcionou a degradação de micotoxinas, principalmente após 120 minutos, com concentração de 60 mmol / mol, sem causar alterações físicas e bioquímicas em grãos de trigo. Só afetou a germinação do trigo após 180 min de exposição, reduzindo a capacidade de

germinação para 12,5%. Os estudos de difração de raios X (XRD), peroxidação lipídica, perfil de proteínas totais e microscopia eletrônica de varredura não demonstraram diferenças significativas após o tratamento com O<sub>3</sub>.

Com a cultura do milho foi encontrado um trabalho onde se estudou o efeito do gás ozônio sobre a degradação de aflatoxina B1 (AFB1) em grãos de milho sob diferentes teores de umidade. A toxicidade dos produtos de degradação tratados com ozônio no milho contaminado também foi avaliada utilizando células de carcinoma hepatocelular humano como modelo. Concluiu-se que a ozonização pode degradar rapidamente e de forma eficaz a aflatoxina B1 no milho e diminuir a toxicidade, e, portanto, a ozonização pode ser um método eficaz, rápido e seguro no controle de aflatoxina em milho, bem como sua toxicidade (LUO et al., 2014).

Marique et al. (2012), utilizaram ozônio no tratamento de sementes de *Triticum aestivum* L. contaminadas com fungos, *Fusarium* sp e *Alternaria* sp. A contagem visual das colônias não permitiu uma avaliação clara do efeito da desinfecção por ozônio. Utilizaram também análise de imagem para a contagem das colônias, a qual mostrou maior eficiência. O gás ozônio demonstrou eficiência no controle de fungos, principalmente de *Fusarium* sp.

Beber-Rodrigues (2013) testou o uso do gás ozônio no controle de fungos em grãos de arroz armazenado e verificou uma redução na quantidade total de fungos, contudo os gêneros *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e leveduras demonstraram resistência às concentrações de gás O<sub>3</sub> aplicado, e que os fungos mais sensíveis foram *Acremonium* e *Alternaria*.



### **3.0 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Sementes utilizadas**

O experimento foi conduzido com sementes de milho da variedade, 30F53, fornecidas pela empresa Pioneer, sem nenhum tipo de tratamento químico. A cultivar empregada possui as seguintes características: elevado potencial produtivo, precocidade, elevada resposta ao manejo e elevada estabilidade às diversas condições climáticas. O plantio é recomendado para a região Sul e Centro Alto. Na região do Centro Alto é recomendado o monitoramento com aplicação de fungicidas.

#### **3.2 Análises laboratoriais**

As análises foram realizadas nos Laboratórios de Processamento de Produtos Agrícolas e no Laboratório de Sementes da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília (UnB), Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília, Distrito Federal.

##### **3.2.1 Obtenção do gás ozônio**

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio baseado no método de Descarga por Barreira Dielétrica (Figura 1). Este tipo de descarga é produzido ao aplicar uma alta tensão entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco. Neste espaço livre, é produzida uma descarga em forma de filamentos, em que são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio ( $O_3$ ). No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo oxigênio ( $O_2$ ) com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido do concentrador de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio.

A concentração de ozônio foi determinada pelo método iodométrico, descrito por Clescerl et al. (2000), que consiste no borbulhamento do ozônio em 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI) 1 N, com produção de Iodo ( $I_2$ ). Para garantir o deslocamento da reação para a produção de  $I_2$ , onde foi necessário acidificar o meio com 2,5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 1 N. A solução foi titulada com tiosulfato de sódio ( $Na_2S_2O_3$ ) 0,01 N, com uso de solução de amido 1% como indicador.



Figura 1 – Equipamento gerador de ozônio e exposição das sementes á água ozonizada, UNB, Brasília, DF, Brasil, 2016.

### 3.2.2 Exposição das sementes ao gás ozônio diluída em água

As sementes, sem nenhum tratamento químico, foram submetidas a quatro concentrações de gás ozônio diluído em água destilada,  $0 \text{ mg/L}^{-1}$  (A) ,  $10 \text{ mg/L}^{-1}$  (B),  $20 \text{ mg/L}^{-1}$  (C) e  $30 \text{ mg/L}^{-1}$  (D) e quatro períodos de exposição de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 horas, formando um fatorial 4 (concentração) x 4 (período de exposição), totalizando 16 tratamentos e mais a testemunha (Semente sem nenhum tipo de tratamento):

**A 0,5** - Concentração de  $0 \text{ mg/L}^{-1}$  no período de exposição de 0,5 hora;

**A 1,0** - Concentração de  $0 \text{ mg/L}^{-1}$  no período de exposição de 1,0 hora;

**A 1,5** - Concentração de  $0 \text{ mg/L}^{-1}$  no período de exposição de 1,5 horas;

**A 2,0** - Concentração de  $0 \text{ mg/L}^{-1}$  no período de exposição de 2,0 horas;

**B 0,5** - Concentração de  $10 \text{ mg/L}^{-1}$  no período de exposição de 0,5 hora;

- B 1,0** - Concentração de 10mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 1,0 hora;
- B 1,5** - Concentração de 10mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 1,5 horas;
- B 2,0** - Concentração de 10mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 2,0 horas;
- C 0,5** - Concentração de 20mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 0,5 hora;
- C 1,0** - Concentração de 20mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 1,0 hora;
- C 1,5** - Concentração de 20mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 1,5 horas;
- C 2,0** - Concentração de 20mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 2,0 horas;
- D 0,5** - Concentração de 30mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 0,5 hora;
- D 1,0** - Concentração de 30mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 1,0 hora;
- D 1,5** - Concentração de 30mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 1,5 horas;
- D 2,0** - Concentração de 30mg/L<sup>-1</sup> no período de exposição de 2,0 horas;

Os tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, com exceção do teste de emergência em campo, para o qual foi adotado o delineamento de blocos ao acaso.

Após submeter as sementes aos tratamentos com ozônio diluído em água, a qualidade fisiológica foi avaliada de acordo com os seguintes testes:

### **3.2.3 Testes de qualidade fisiológica**

#### **3.2.3.1 Teste padrão de germinação (TPG)**

Foram realizadas 8 repetições de 25 sementes por tratamento, colocadas para germinar em substrato papel germitest na forma de rolo. O papel foi umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, e destinado ao germinador regulado para 25°C, por sete dias, seguindo os critérios descritos nas Regras de Análise para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Ao final do teste avaliou-se o número de plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem.



Figura 2 – Teste padrão de germinação, UNB, Brasília, DF, Brasil, 2016.

### **3.2.3.2 Teste de condutividade elétrica**

Para esta avaliação, duas repetições de 50 sementes para cada repetição, com massa conhecida, foram colocadas para embeber em copos plásticos contendo 75 mL de água destilada, por um período de 24 horas a 25°C. Em seguida, as amostras foram agitadas para homogeneização dos exsudados liberados na água. A leitura da condutividade elétrica da solução em embebição foi realizada em condutivímetro modelo Digimed DM 31, previamente calibrado, com eletrodo de constante 1,0. O resultado da condutividade elétrica foi calculado pela seguinte fórmula:  $CE = Lc/Mi$ . Sendo, Lc: Leitura do condutivímetro; Mi: massa inicial. Os resultados foram expressos em  $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$  de sementes (VIEIRA, 1994).

### **3.3 Avaliações em campo**

O teste de emergência de plântulas em campo foi realizado na Fazenda Água Limpa, que pertence a UnB e localiza-se na área rural da Vargem Bonita – DF.

#### **3.3.1 Teste de emergência de plântula em campo**

Segundo a classificação de Köppen, o clima da Fazenda Água Limpa é tropical, concentrando-se no verão, as precipitações. O período mais chuvoso corresponde aos meses de novembro a janeiro, e o período seco ocorre no inverno, especialmente nos meses de junho a

agosto. As sementes foram semeadas em sulco com 2,0 m de comprimento, aproximadamente 4,0 cm de profundidade e o espaçamento entre linhas foi de 0,5 metros, simulando a semeadura no campo propriamente dita, sendo irrigadas diariamente. A contagem das plântulas normais emergidas foi efetuada aos 14 dias após a semeadura com expressão dos resultados em porcentagem (NAKAGAWA, 1999).

### **3.3.2 Altura da planta**

A medição das plantas foi feita 60 dias após a semeadura (DAS). As plantas de milho se encontravam em estado vegetativo com aproximadamente 12 folhas. Na medição, considerou-se a altura rente ao solo até a inserção da primeira folha no caule. Foram medidas duas plantas de cada linha de plantio (parcela) nas concentrações A, B e C, considerando as repetições do ozônio. A concentração D foi excluída desse teste.

### **3.4 Delineamento experimental e análise estatística**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado para as análises laboratoriais e os de campo foi em blocos casualizados, com quatro repetições. As análises estatísticas foram feitas no programa Assistat 7.5 (SILVA; AZEVEDO, 2009). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação para todos os caracteres considerados foi considerada alta, ficando abaixo de 15% (Tabela 1). Estes valores são condizentes com o que é normalmente observado em experimentos de avaliação da qualidade fisiológica em sementes de milho (BORBA et al., 1995; PERES, 2010).

Na tabela 1 observa-se que para o fator período de exposição não foi observado diferença significativa nos testes realizados. No teste padrão de germinação (TPG) houve diferença significativa no fator concentração x período de exposição. No teste de emergência em campo (EC), observou-se diferença significativa no fator concentração; no teste de condutividade elétrica (CE), houve diferença significativa nos fatores concentração x período de exposição e interação fatores x testemunha e na altura da planta, houve diferença significativa apenas na interação entre os fatores concentração período de exposição. A interação sendo significativa permite inferir se houve diferença entre os tratamentos adotados.

**Tabela 1.** Análise de variância dos testes de qualidade fisiológicas em sementes de milho.

FV	QM			
	TPG	EC	CE	AP
Concentração	10,67 <sup>ns</sup>	220,45**	9,07 <sup>ns</sup>	205,43 <sup>ns</sup>
Período de exposição	10,27 <sup>ns</sup>	6,83 <sup>ns</sup>	2,04 <sup>ns</sup>	97,74 <sup>ns</sup>
Conc. x Per.	21,66**	19,90 <sup>ns</sup>	11,28*	322,06*
Fat x Test.	5,17 <sup>ns</sup>	28,47 <sup>ns</sup>	107,81**	47,13 <sup>ns</sup>
Erro	6,12	34,93	4,16	129,81
CV	2,59	7,15	8,36	14,66
Média	95,64	82,66	24,40	77,70

\*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. \*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste F. TPG: teste padrão de germinação; EC: Emergência em campo; CE: condutividade elétrica; AP: altura de planta.

Na tabela 2 estão demonstradas as médias do teste de emergência em campo uma vez que foi o único que demonstrou diferença significativa quanto ao fator concentração. Percebe-se que a melhor concentração foi a D (30mg L<sup>-1</sup>). Inferindo-se que a água ozonizada em uma concentração maior melhorou o vigor da semente, e conseqüentemente as sementes emergiram melhor. Na pesquisa de Hsieh et al. (1998) foi usado ozônio a 240ppm por seis dias consecutivos (4hs/dia) em sementes de gramíneas para avaliar o controle dos fungos. Os autores não

verificaram melhoria na germinação das sementes, mas na avaliação de vigor houve vantagem quando as sementes tiveram tratamento com água ozonizada.

É importante ressaltar que o teste de emergência em campo foi instalado no mês de maio de 2016 na Fazenda Água Limpa e que durante o período de realização do teste houve temperaturas muito amenas (noturnas em torno de 12°C) o que pode ter interferido nos resultados.

**Tabela 2.** Valores médios obtidos para emergência em campo considerando o fator concentração.

Concentração	Emergência em campo
A	82,81 ab
B	78,81 b
C	80,87 b
D	87,50 a
DMS	5,55

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Tabela 3 é possível observar as interações entre concentração e período de exposição para os testes onde verificou-se efeito significativo na tabela 1. Observa-se que no teste padrão de germinação o maior valor numérico foi na combinação de A1,5, ou seja, concentração zero (sem gás) e período de exposição de 1,5 hora. Pelo teste de médias, no período de 0,5 hora, a menor germinação é verificada na concentração B, e a melhor na concentração D. No período de duas horas, a melhor germinação foi na concentração B.

Importante ressaltar que os valores encontrados no teste de germinação para todos os tratamentos estão acima do padrão mínimo exigido na Legislação Brasileira, que é de 85% (BRASIL, 2013). Demonstrando que esse lote de sementes apresentava alta viabilidade.

No teste de condutividade elétrica o menor valor numérico foi na concentração mais alta (D) com 1,5 hora de exposição e o valor com maior quantidade de lixiviados na solução de embebição foi no período de 0,5 concentração C (Tabela 3).

Na medição realizada no campo quanto à altura de planta aos 60 dias após plantio, a média mais alta foi na concentração C exposta 1,5 hora à água ozonizada (Tabela 3).

O crescimento da planta do milho ocorre apenas na fase vegetativa, quando a cultura entra na fase reprodutiva o crescimento se estabiliza, assim aos 60 dias após sementeira, as plantas estão uniformes, o que pode ser constatado na tabela 3, em que as plantas estão em um tamanho médio para uma planta em desenvolvimento.

**Tabela 3.** Interação entre os fatores concentração e período de exposição na qualidade fisiológica do milho.

Teste	Concentração	Período de exposição (horas)			
		0,5	1,0	1,5	2,0
TPG	A	95,00 abA	97,37aA	98,87 aA	95,62abA
	B	92,25 bC	93,75 aBC	97,75 aAB	98,62 aA
	C	95,12 aA	95,25 aA	95,12 aA	92,87 bA
	D	96,87 abA	94,75aA	95,25 aA	92,62 bA
CE	A	21,98 bA	23,62 aA	25,47 aA	21,75 bA
	B	25,98 bA	23,29 aA	24,46 aA	25,98 aA
	C	26,27 aA	22,90 aA	24,23 aA	24,14 abA
	D	23,54 abA	24,65 aA	21,70 aA	24,19 abA
AP	A	85,06 aA	82,53 aA	64,87 bA	84,90 aA
	B	80,68 aA	66,12 aA	70,78 abA	78,06 aA
	C	78,84 aA	79,62 aA	90,21 aA	73,03 abA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. TPG: teste padrão de germinação; CE: condutividade elétrica; AP: altura de planta.

Em trabalho com milho, Maximiano et al. (2014) verificou a eficiência do gás ozônio no controle de fungos e o não comprometimento da qualidade fisiológica. O mesmo foi verificado por Brandani (2014) com sementes de soja.

Na tabela 4 estão apresentados os resultados do teste de média realizado para condutividade elétrica, onde foi observada diferença significativa entre as médias encontradas.

Quando se compara os tratamentos com a testemunha (Tabela 2), observa-se que os



tratamentos apresentaram condutividade elétrica (CE) menor que a testemunha. Entre os tratamentos, o maior valor foi encontrado em C0,5 e o menor no D1,5, concluindo que numa maior concentração de ozônio a qualidade da semente foi melhor, pois no teste de condutividade elétrica, quanto maior os valores encontrados pior é a qualidade da semente. Quanto maior o valor da condutividade, maior a quantidade de lixiviados liberados para a solução de embebição, pior a qualidade da semente (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

Para milho já existe na literatura padrões definidos de qualidade com relação ao teste de condutividade elétrica. Sendo que sementes com valores de condutividade elétrica  $\leq 6 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  são de muito alto vigor; entre  $6 - 15 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  são de alto vigor; entre  $15 - 24 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  são de médio vigor e maiores que  $\geq 24 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  são de baixo vigor (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

Conforme os resultados encontrados (Tabela 4), para todos os tratamentos considerados, foram observados resultados de condutividade elétrica superior a  $15 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ , evidenciando que as sementes se encontravam com vigor entre médio a baixo.

Paiva Agüero (1997) verificou que a condutividade elétrica pode estimar com alto grau de precisão o desempenho das sementes no campo, dependendo das condições climáticas predominantes na área. Contudo, o teste de condutividade elétrica, quando usado única e exclusivamente, não é capaz de estimar o desempenho das sementes no campo, sendo necessária a adoção de outros testes de vigor para complementar os resultados. Membranas mal estruturadas e células danificadas estão, geralmente, associadas ao processo de deterioração da semente e, portanto, com sementes de baixo vigor (AOSA, 1983).

Na testemunha observou-se numericamente condutividade maior que os demais tratamentos (Tabela 4). A redução da condutividade elétrica nos tratamentos submetidos ao ozônio pode ser atribuída a uma provável restauração na integridade da membrana das sementes. Comportamento semelhante também foi observado em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), onde os menores valores de condutividade elétrica foram observados em sementes condicionadas com PEG 6000 por um maior período de tempo, independente do genótipo e do potencial osmótico utilizado (RIBEIRO et al., 2002).

Muitos fatores podem influenciar o ganho de água e a lixiviação de exsudatos das sementes após o condicionamento osmótico. Dentre esses fatores, a temperatura e o tempo têm sido relatados por influenciarem diretamente nos valores de condutividade elétrica (CHIU et al., 2002). Neste trabalho não se testou diferentes temperaturas para os potenciais osmóticos empregados, no entanto, a variação se deu em nível de concentração e tempo de exposição, que

pode ter, provavelmente, contribuído para alterações nos valores de condutividade que decresceram com o tratamento.

**Tabela 4.** Valores médios obtidos no teste de condutividade elétrica em milho considerando a interação entre fatores e testemunha.

Tratamento	CE
A0,5	21,98 b
A1,0	23,62 b
A1,5	25,47 a
A2,0	21,75 b
B0,5	25,98 a
B1,0	23,29 b
B1,5	24,46 b
B2,0	25,98 a
C0,5	26,27 a
C1,0	22,90 b
C1,5	24,43 b
C2,0	24,14 b
D0,5	23,54 b
D1,0	24,65 b
D1,5	21,70 b
D2,0	25,19 a
Testemunha	29,44 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, de acordo com o critério de agrupamento de Tukey a 5% de probabilidade; CE: condutividade elétrica.

Segundo a ISTA (1999), vigor de sementes é a soma daquelas propriedades que determinam o nível potencial de atividade e desempenho de uma semente ou lote de sementes durante a germinação e emergência da plântula.

Na literatura pode-se encontrar diversos trabalhos onde vem-se tentando evidenciar o

efeito do gás ozônio sobre a germinação das sementes e sobre o controle de fungos em sementes (YVIN; COSTE, 1995; HSIEH et al., 1998; VIOLLEAU et al., 2007; ABDEL-WAHHAB, 2011; EI-DESOUKY et al., 2012; MARIQUE et al., 2012; BEBER-RODRIGUES, 2013; LUO et al., 2014; SAVI et al., 2014) em várias espécies. Além disso, tem sido observado o efeito de outras formas reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio na germinação de sementes. Um efeito positivo de peróxido de hidrogênio no crescimento de raízes em plântulas de trigo foi demonstrado no trabalho de Hameed et al. (2004). Para as sementes de arroz (SAZAKI et al., 2005), o aumento da germinação de sementes e o crescimento das plântulas foram relacionados com a expressão de gene que codifica a oxidase ascorbato (APX) e catalase (CAT).

Contudo, não foram encontrados trabalhos com a cultura do milho e dessa forma, os resultados desse estudo, podem servir de base para futuros trabalhos de avaliação do uso do gás ozônio na qualidade fisiológica das sementes

No trabalho de Sudhakar et al. (2011) com *Lycopersicon esculentum*, visando quebra de dormência das sementes com o uso do ozônio, observaram que alta concentração e longo período de exposição das sementes ao gás é prejudicial à germinação.

Pode-se dizer que os valores de germinação encontrados nesse estudo foram altos e o desenvolvimento no campo foi uniforme, concluindo assim que o ozônio não afetou a qualidade fisiológica da semente de milho e que pode ser usado como um tratamento ao controle de fungos em sementes, caso em pesquisas futuras seja evidenciado seu efeito no controle de fungos em sementes de milho.

## **5. CONCLUSÕES**

O tratamento de sementes com água ozonizada não afetou negativamente a qualidade fisiológica da semente de milho e pode vir a ser usado no controle de fungos em sementes, caso em pesquisas futuras seja evidenciado seu efeito como fungicida para sementes de milho.

## 6. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ABDEL-WAHHAB, M.A.; SEHAB, A.F.; HASSANIEN, F.R.; EL-NEMR, Sh., E., AMRA, H.A.; ABDEL-ALIM, H.A. Efficacy of ozone to reduce fungal spoilage and aflatoxin contamination in peanuts. **International Journal of Nuts and Related Sciences**, v.2, n.4, p. 01-14, 2011.

AGUAYO, E.; ESCALONA, V.H.; ARTES, F. Effect of cyclic exposure to ozone gas on physicochemical, sensorial and microbial quality of whole and sliced tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p.169-177, 2006.

ALBUQUERQUE, P.E.P. de; ANDRADE, C. de L.T. de. Planilha eletrônica para a programação da irrigação de culturas anuais. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 14p. (Embrapa Milho e Sorgo. **Circular Técnica** 10. Applications in Food: A Review. *Journal of Food Science*, v.66, n.9, p.1242-1252, 2001.

ANDRADE, R.V.; AUZZA, S.A.Z.; ANDREOLI, C.; MARTINS NETTO, D.A & OLIVEIRA, A.C. **Qualidade fisiológica das sementes do milho híbrido simples HS 200 em relação ao tamanho**, *Ciencia e Agrotecnologia*, UFLA, Lavras, v25, n3, p 576-582, 2001.

ANDRADE, R.V.; BORBA, C.S. Tecnologia para produção de sementes de milho. Sete Lagoas: **EMBRAPA-CNPMS**, 1993. 61p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 6).

AOSA - Association of Official Seed Analysts. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing, AOSA. 1983. 88p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS (ABRASEM). Levantamento estatístico. Taxa de utilização de sementes, Brasil, 2012/2013. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/category/estatisticas/#>>. Acesso em: 01 de março 2016.

BEBER-RODRIGUES, M. **Efeito do gás ozônio na qualidade micotoxicológica de arroz (*Oryza sativa* L.) em casca durante a armazenagem.** 2013. 123p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

BITTENCOURT, S.R.M. et al. Metodologia alternativa para a condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n.8, p.1360-1365, ago. 2012.

BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; ANDREOLI, C.; PURCINO, A.A.C. Germinação de sementes de diversos genótipos de milho tropical (*Zea mays* L.) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 17, n. 2, p.141-144, 1995.

BRACCINI, A. L. et al. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado.** **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1053-1066, jun.1999.

BRANDÃO JUNIOR, D. E. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas na avaliação da qualidade de sementes de milho.** 1996. 110 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

BRANDANI, E. B. **Efeito do gás ozônio no controle de fungos e na qualidade fisiológica em sementes de soja.** Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2014, 49p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 45, de 17 de setembro de 2013. Diário Oficial da União, DF, 20 set. 2013. p. 25, Seção 1.

BYRUM, J. R.; COPELAND, L. O. Variability in vigour testing of maize (*Zea mays* L.) seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 2, p. 543-549, 1995.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Campinas: Fundação Cargill, 2000. 424 p.

CARVALHO, N.M. **Vigor de sementes**. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. (coord). Atualização em produção de sementes. Campinas. Fundação Cargill, 1986. p. 207-223.

CASA, R.T., MOREIRA, E.N., WILLE, L.A., SANSIGOLO, A., MIRANDA, F., BOGO, A. & ALEXANDRE, F. Eficácia do tratamento de sementes de milho com fungicidas comercializadas em Santa Catarina e Rio Grande do Sul na safra de 2003/04. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, 29: 209. 2004.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; MEDEIROS, C.A. & MOURA, F.B. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas, na proteção de fungos do solo, no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 20:633-638. 1995.

CASA, R.T., REIS, E.M., NERBASS, F.R. Implicações epidemiológicas da transmissão de fungos em sementes de milho. In: **Manejo de doenças de grandes culturas: feijão, batata, milho e sorgo**. Lavras: UFLA, 2006. p. 202-212

CASA, R.T., REIS, E.M., ZAMBOLIM, L. Fungos associados a sementes de milho produzidas nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 23:370- 373. 1998a.

CASA, R.T., ZAMBOLIM, L.; REIS, E.M. Transmissão e controle de *Diplodia* em sementes de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 23:436-441. 1998b.

CASEIRO, R.F; MARCOS FILHO, J. **Procedimentos para condução do teste de frio em sementes de milho: pré-resfriamento e distribuição do substrato no interior da câmara fria.** Revista Brasileira de Sementes, Londrina, v. 24, n. 2, p.6-11, 2002.

CHIU, K.Y. et al. Effect of priming temperature on storability of primed sh-2 sweet corn seed. **Crop Sci.**, Madison, v. 42, n. 6, p. 1996-2003, 2002.

CICCARESE, F.; SASANELLI, N.; CICCARESE, A.; ZIADI, T.; AMBRICO, A.; MANCINI, L. Seed disinfestation by ozone treatments. **IOA Conference and Exhibition Valencia**, Spain - October 29 – 31, 2007, p.4.6 – 1.

CICERO, S. M.; VIEIRA, R. D. **Teste de frio.** In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.151-164.

CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** Denver: Water Work Association, 2000. 1220p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Perspectivas para a Agropecuária. Volume 3 – Safra 2015/2016** Produtos de Verão Disponível em:<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_09\\_24\\_11\\_44\\_50\\_perspectivas\\_agropecuaria\\_2015-16\\_-\\_produtos\\_verao.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_24_11_44_50_perspectivas_agropecuaria_2015-16_-_produtos_verao.pdf) > Acesso em: 23 de Março 2016.

COUTO, L.; RESENDE, M.; ALBUQUERQUE, P. E. P. **Importância do milho irrigado.** In: RESENDE, M., ALBUQUERQUE, P. E. P., COUTO, L. A cultura do milho irrigado. Brasília. Embrapa Informações e Tecnologia, 2003. p.12-22.

DAN, E. L. et al. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 45-55, dez. 1987.



DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO (DEAGRO). Safra mundial de milho 2015/2016: 9º levantamento do USDA, Mar/16. Disponível em: <<http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2>>. Acesso em: 25 de março de 2016.

DURÃES, F. O. M.; CHAMMA, H. M. C. P.; COSTA, J. D.; MAGALHÃES, P. C.; BORBA, C. da S. **Índices de vigor de sementes de milho (*Zea mays* L.): associação com emergência em campo, crescimento e rendimento de grãos.** Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 16, n.1, p. 13-18, 1994.

EL-DESOUKY, T.A., SHAROBA, A.M.A., EL-DESOUKY A.I., EL-MANSY, H.A., NAGUIB K. Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and *Aspergillus Flavus* Fungal. **J Environment Analytic Toxicol**, v.2:128, p.1-6, 2012.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho.** 2. ed. Brasília: Embrapa – SPI, 1996. p. 204.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho.** 2. ed. Brasília: Embrapa – SPI, 2010.

FERNANDES, F.T. & OLIVEIRA, E. de. Principais doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1997. 80p. (Embrapa-CNPMS. **Circular Técnica**, 26).

FESSEL, S. A. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de soja armazenadas sob diferentes temperaturas. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 207-214, 2010.

FOLEY, D.C. Systemic infection of corn by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, Iowa, 52:870-872. 1962.

GOULART, A.C.P.; FIALHO, W.F.B. Eficiência de fungicidas no controle de patógenos em sementes de milho (*Zea mays* L.). **Informativo ABRATES**, Londrina, v.4, n.3, p.55-59, dez. 1994.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. *Food Technol.* 51(6): 72–75. 1997.

HAMEED, A., FAROOQ, S., IQBAL, N.; ARSHAD, R. Influence of exogenous application of hydrogen peroxide on root and seedling growth on wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Agriculture & Biology**, v.6, n.2, p.366 – 369, 2004.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigour test methods**. 3.ed. Zurich: ISTA, 1995. 117p.

HEPBURN, H. A.; POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybeans. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 12, n. 3, p. 403-13, Oct. 1984.

HILHORST, H. W. et al. **Curso avançado em fisiologia e tecnologia de sementes**. Lavras: UFLA, 2001. 74 p.

HSIEH, S. P. Y., NINQ, S. S., and TZENG D. D. Control of turf grass seedborne pathogenic fungi by ozone. **Plant Pathol. Bull.** v.7, p.105-112, 1998.

ISTA - INTERNACIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seeds testing. Rules** 1985. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.13, n.2, p.299-355; p.356-513, 1999.

KHADRE, M.A.; YOUSEF, A.E.; KIM, J.G. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. **Journal of Food Science**, v.66, n.9, p.1242-1252, 2001.

KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLOSOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, n.4, p.371-383, 2001.

KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62. n.9, p. 1071-1087, 1999.

KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; KHADRE, M.A. Ozone and its current and future application in the food industry. In: TAYLOR, S.L (Ed.) **Advances in Food and Nutrition Research**. New York: Academic Press, v.45, pp. 167-218, 2003.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; BIAN, YUANYUAN, B.; CHEN, Z. Effect of ozone treatment on aflatoxin B1 and safety evaluation of ozonized corn. **Food Control**, v. 37, p. 171-76, 2014.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Circular técnica, n. 20, 1995.

MALAVOLTA, E.; GOMES, F.P.; ALCARDE, J. C. **Adubos e adubações**. São Paulo: Nobel, 2002. p. 200.

MARCOS FILHO, J.; **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba, FEALQ, 2005. 495p.

MARCOS FILHO, J. **Teste de envelhecimento acelerado**. In: KRZYZANOWSKI, F.

C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p. 3.1-3.24, 1999.

MARCOS FILHO, J. **Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes.** Informativo ABRATES, Londrina, v.4, n. 2, p. 33-35, 1994.

MARIQUE, T.; ALLARD, O.; SPANOGHE, M. Use of self-organizing map to analyze images of fungi colonies grown from *Triticum aestivum* seeds disinfected by ozone treatment. **International Journal of Microbiology.** 5p. 2012

MARTINS, C. C. et al. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 96-101, 2002.

MAXIMIANO, C.V. et al. Efeito do gás ozônio no controle de fungos em sementes de milho. In: 20º Congresso de Iniciação Científica da UnB/11º Congresso de Iniciação Científica do DF. 2014, Brasília: UnB. p.412.

McDONALD JUNIOR, M. B.; WILSON, D. O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 4, n. 2, p. 1-11, 1979.

MCDONALD, M.B. The history of seed vigor testing. **Journal of Seed Technology**, v.17, n.2, 1993. p. 93-100.

McGEE, D.C. Maize disease: a reference source for seed technologists. St. Paul: The American **Phytopathological Society**. 1988. 150p.

MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and

performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.33-44, 2003.

MUNKVOLD, G.P., McGEE, D.C., CARLTON, W.M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, Iowa, 87:209-217. 1997.

NEERGAARD, P. Seed pathology. London: MacMillan, 1977. 1187p.

NOVAK, J.S.; YUAN, J.T.C. **The Ozonation Concept: Advantages of ozone Treatment and Commercial Developments**. In :Tewari, G.; Juneja, V.K. (Eds.) *Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation*. Ames: Blackwell Publishing, 2007, p. 185-193.

OLIVEIRA, R.M.; WOSHC, C.L. Ozonólise: **A busca por um Mecanismo**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. *Química Nova*. Vol. 35, No. 7, 1482-1485, 2012.

ÖZTEKIN, S.; ZORLUGENC, B.; ZORLUGENC, F.K. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. **Journal of Food Engineering**, v.75, p.396–399, 2006.

PAIVA-AGUERO, J. A.; VIEIRA, R. D.; BITTENCOURT, S. R. M. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de cultivares de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 225-60, 1997

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.

PEREIRA, O.A.P., CARVALHO, R.V. & CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In:

KIMATI, H., AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds). Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 4ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, vol.2. p.477-488, 2005.

PINTO, N.F.J. de A. Patologia de sementes de milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1998. 44p. (Embrapa-CNPMS, **Circular Técnica**, 29).

PINTO, N.F.J. Tratamento com fungicidas de sementes de milho. In: SOAVE, J., OLIVEIRA, M.R.M.; MENTEN, J.O.M. (Eds.) Tratamento químico de sementes. **Anais**, 4º Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, Gramado, RS, 1996. p.52-57.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGLPLAN, 1977. 289p

POWELL, A. A. Cell membranes and seed leakage conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal Seed Technology**, Springfield, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

PRETE, C.E.C.; GUERRA, E.P. **Qualidade fisiológica de sementes**. In: Destro D & Montalvan R (Eds.) Melhoramento genético de plantas, 1999. p. 659-674.

PRISCO, J.T.; ENÉAS FILHO, J.R.; GOMES FILHO, E. Effect of NaCl on cotyledon starch mobilization during germination of *Vigna unguiculata* (L.) Walp seed. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 63-71, 1981.

RAILA, A.; LUGAUSKAS, A.; STEPONAVIČIUS, D.; RAILIENĖ, M.; STEPONAVIČIENĖ, A.; ZVICEVIČIUS, E. Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v.13, n.2, p.287-294, 2006.

REIS, E.M.; CASA, R.T. **Doenças da cevada: helmintosporioses – mancha em rede – mancha marrom – mancha estriada**. São Paulo, Beyer, 2001. 46p.

REIS, E.M., CASA, R.T. & BRESOLIN, A.C.R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. 144p.

REIS, E.M.; CASA, R.T. **Manual de identificação e controle de doenças do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 80p.

REIS, E.M. & CASA, R.T. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. Passo Fundo. Aldeia Norte Editora. 1998. 88p.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle. 2. ed. **Rev. Atual**. Lages: Graphel, 2007. 176 p.

REIS, A.C.; REIS, E.M.; CASA, R.T. et al. Erradicação de fungos patogênicos associados a sementes de milho e proteção de fungos de solo pelo tratamento com fungicida. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 20: 585-591. 1995.

RESENDE, M.; FRANÇA, G. E. **Manejo de corretivos e fertilizantes**. In: RESENDE, M., RIBEIRO, U. P.; VON PINHO, E. V. de R.; GUIMARÃES, R. M; VIANA, L. de S. Determinação do potencial osmótico e do período de embebição utilizados no condicionamento fisiológico de sementes de algodão. **Ciência Agropecuária**, v. 26, n. 5, p. 911-917, 2002.

RESENDE, M., ALBUQUERQUE, P. E. P., COUTO, L. A cultura do milho irrigado. Brasília. Embrapa Informações e Tecnologia, 2003. p.12-22.

RIBEIRO, U. P.; VON PINHO, E. V. de R.; GUIMARÃES, R. M; VIANA, L. de S. Determinação do potencial osmótico e do período de embebição utilizados no condicionamento fisiológico de sementes de algodão. **Ciência Agropecuária**, v. 26, n. 5, p. 911-917, 2002.

RICE, R.G.; GRAHAM, D.M. Recent developments in food and agricultural uses of

ozone, **Annual Conference** - Ozone Applications in a Changing Regulatory Environment. North Caroline: IOA- Raleigh, 2002, p.1-12.

RUBIN M. B. History of Ozone. Part III. C.D. **Harries and the introduction of ozone into organic chemistry**. Helv Chim Acta, 86, p.930-940. 2003.

SAHAB, A.F.; HASSANIEN, F.R.; EI-NEMR, S.E.; ABDEL-ALIM, H.A.; ABDEL-WAHHAB, M.A. Effect of ozone gaseous on aflatoxin degradation and fat and protein content in peanut seeds. **Journal of Applied Sciences Research**, 9(3): 2170-2175, 2013.

SANTOS, P.E.C.; SOUZA, P.I.M.; CARMONA, R.; FAGIOLI, M.; SPEHAR, C.R.; VILLAS BÔAS, H.D.C. Especial ABRASEM. Matéria Técnica - **Semente é tecnologia**. Revista Agroanalysis, p. 31-37, março de 2014. SASAKI,

SARTORI, A.F. Sementes de milho e restos culturais de aveia como fonte de inóculo para as podridões da base do colmo. 2003. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, Passo Fundo, 2003.

SAVI, G.D.; PIACENTINI, K.C.; BITTENCOURT, K.O.; SCUSSEL, V.M. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) quality and germination. **Journal of Stored Products Research**, p.1-9, 2014.

SASAKI, K., KISHITANI, S., ABE, F.; SATO, T., Promotion of seedling growth of seeds of rice (*Oryza sativa* L. cv Hitomabore) by treatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> before sowing, **Plant Production Science**, v.8, p.509 – 514, 2005.

SEVERO R.A. A emergência de milho: os efeitos de fatores bióticos e abióticos. 1999. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-graduação de Fitotecnia, Porto Alegre, 1999.



SHURTLEFF, M. C. **Compendium of corn diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1992. 105p.

SILVA, R. A.; CARVALHO, G. S. **Ocorrência de insetos na cultura do milho em sistema de plantio direto, coletados com armadilhas-de-solo**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n. 2, p.199-203, 2000.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. **Principal components analysis in the software assistat-statistical assistance**. In: 7th World Congress on Computers in Agriculture, 2009, Reno. **Proceedings of the 7th World Congress on Computers in Agriculture**. St. Joseph: ASABE, 2009. v. CD-Rom. p.1-5.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. Adubação com nitrogênio. In: SOUSA, D.M.G. & LOBATO, E., eds. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2.ed. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2002. p.129-144.

SUDHAKAR, N.; NAGENDRA-PRASAD, D.; MORAN, N.; HILL, B.; GUNASEKARAM, M.; MURGESAN, K. Assessing influence of ozone in tomato seed dormancy alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, v.2, p. 443-448, 2011.

TORRES, S. B.; MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, p.108-112, 2001.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). World Agricultural Production. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 23 de março de 2016.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal:

FUNEP, 1994. 164p.

VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. cap. 4, p. 103-132.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Teste de condutividade elétrica**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 4, p. 1-26.

VIOLLEAU, F.; HADJEBA, K.; ALBET, J.; CAZALIS, R.; SUREL, O.; Increase of corn seeds germination by oxygen and ozone treatment. **IOA Conference and Exhibition**, Valencia, Spain - October 29 – 31, 2007.

WHANGCHAI, K.; SAENGNIL, K.; UTHAIBUTRA, J. Effect of ozone in combination with some organic acids on the control of postharvest decay and pericarp browning of longan fruit. **Crop Protection**, v.25, p.821–825, 2006.

WOODSTOCK, L.W. Seed vigor. **Seed World**, v.97, 1965. p. 6.

WU, J.; DOAN, H.; CUENCA, M.A. Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v.81, n.7, p.1288-1293, 2006.

YOUNG, J.C.; ZHU, H.; ZHOU, T. **Degradation of trichothecenemycotoxins by aqueous ozone**. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p.417-424, 2006.

YVIN, J.C.; COSTE, C., Method and system for the treatment of seeds and bulb with ozone, **World Patent**, WO09523, 1995.