

Exposição de sementes de rabanete a diferentes tempos de tratamento com gás ozônio

Helio Fernandes Ibanhes Neto¹, Vanessa Stegani¹, Raissa Marrafon Ponce¹, Verônica Pellizzaro¹, Ananda Covre da Silva¹, Denis Santiago Costa¹, Lúcia Sadayo Assari Takahashi¹

Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380, s/n - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970

RESUMO

O ozônio é um gás rearranjado a partir do rompimento de moléculas de oxigênio, e amplamente utilizado no tratamento sanitário. O controle de pragas e microrganismos na agricultura orgânica ainda é um assunto a ser explorado, tendo o uso do ozônio como alternativa. Assim, o presente trabalho teve como objetivo verificar a resposta fisiológica de sementes de rabanete (*Raphanus sativus*) ao tratamento com ozônio em diferentes tempos. Foram testados dois lotes de rabanete (cultivar Saxa), em resposta à três tempos de ozonização, 0, 45 e 90 minutos. As características avaliadas foram determinação precoce de raiz primária, porcentagem de plântulas normais e anormais em teste de germinação, comprimento de partes radicular, aérea e total de plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância, teste de Tukey, e análises de componentes principais. Os resultados encontrados indicaram aceleração da velocidade de germinação para o tempo 90 minutos de ozonização, redução do número de plântulas anormais, e correlação negativa entre avaliação precoce de raiz e os comprimentos avaliados.

Palavra chave: ozonização, *Raphanus sativus*, germinação, comprimento de plântulas.

ABSTRACT

Ozone is a gas rearranged from the breakdown of oxygen molecules, and widely used in sanitary treatment. The control of pests and microorganisms in organic agriculture is still a subject to be explored, with the use of ozone as an alternative. Thus, the present work had as objective to verify the physiological response of seeds of radish (*Raphanus sativus*) to the treatment with ozone in different times. Two batches of radish (Saxa cultivar) were tested in response to three ozonation times, 0, 45 and 90 minutes. The evaluated characteristics were: primary root early evaluation, percentage of normal and abnormal seedlings in germination test, root length, shoot and total seedling length. Data were submitted to analysis of variance, Tukey's test, and analysis of main components. The results showed an acceleration of the germination speed for the time 90 minutes of ozonization, reduction of the number of abnormal seedlings, and negative correlation between early root evaluation and the evaluated lengths

Key words: ozonization, *Raphanus sativus*, germination, seedling length.

INTRODUÇÃO

Dentre as tecnologias com potencial de uso na agricultura, o gás ozônio vem se tornando uma alternativa ecológica, economicamente praticável e de ampla aplicabilidade no setor agrícola (ROZADO et al., 2008).

O ozônio é uma molécula triatômica (O_3) que surge a partir do rompimento de moléculas de oxigênio (O_2) seguido pelo rearranjo desses átomos separados individualmente com outras moléculas de O_2 (DA SILVA et al., 2011). Essa forma alotrópica do oxigênio pode ser produzida naturalmente através de reações fotoquímicas, como os relâmpagos, pela incidência de radiação ultravioleta, ou artificialmente através de máquinas que geram reações elétricas sobre o oxigênio (BALAKRISHNANA et al., 2002; HARRISSON, 2000; KIM et al., 1999).

O gás ozônio possui um alto poder oxidativo de compostos orgânicos e inorgânicos. Contudo, tal característica aliada ao fato de que sua degradação resulta na formação de gás oxigênio como sub-produto da reação torna possível sua aplicação como tratamento fitossanitário de águas poluídas, alimentos, e até mesmo de grãos e sementes armazenadas (MAHMOUD; FREIRE, 2007).

O controle de pragas e microrganismos é importante para garantir a qualidade de sementes armazenadas, de forma a evitar perdas em seu vigor e germinação. Além disso, as sementes são um importante disseminador de patógenos dentro das culturas (HENNING, 2004). Atualmente, o emprego de produtos químicos é o mais utilizado para garantir as condições sanitárias de sementes e grãos (RODRIGUES et al., 2015).

Entretanto, o ozônio se tornou uma técnica alternativa aos produtos químicos no controle de microrganismos e pragas de grãos armazenados devido seu potencial de toxidez para esses indivíduos. O gás causa danos as membranas celulares, reage com glicoproteínas, glicolipídeos e enzimas, degrada purinas e piridinas do DNA causando desnaturação dos componentes celulares, ruptura e morte da célula desses organismos (CAJAMARCA, 2015). Essa nova técnica reduz a necessidade de embalagens especiais e evita o uso excessivo de produtos químicos (TIWARI et al., 2010).

A agricultura orgânica é um sistema de cultivo que proíbe o uso de matérias sintéticas como agrotóxicos e fertilizantes, o uso de organismos geneticamente modificados, e preconiza práticas conservacionistas de solo e água e controle biológico (DULEY, 2003). Dessa forma, por não deixar resíduos tóxicos o ozônio pode ser utilizado na agricultura orgânica como agente sanitizante que descontamina frutas e legumes de bactérias, fungos, vírus e os conserva por mais tempo (CAJAMARCA, 2015).

Apesar do ozônio ter sido considerado seguro em 2001 pela U. S Food and Drug Administration para o processamento de alimentos (GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004) e seu potencial de uso já ter sido relatado em diversos trabalhos com frutos pós- colheita e com armazenamentos de grãos, ainda há a necessidade de estudos que avaliem a interferência do ozônio no potencial fisiológico de sementes.

Diante disso, esse trabalho objetivou avaliar o efeito da exposição de lotes de semente de rabanete a diferentes tempos de ozonização.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitotecnia da Universidade Estadual de Londrina. Utilizou-se dois lotes de sementes de rabanete, cultivar Saxa®, Isla

Sementes, adquiridos comercialmente, e mantidas a 5°C durante o armazenamento até a montagem do experimento. Os lotes foram caracterizados quanto ao teor de água em: lote 1 com 9%, e lote 2 com 11%. A determinação do teor de água dos lotes foi feita através do método de secagem em estufa a 105±3°C/24h (BRASIL, 2009).

Os tratamentos propostos foram obtidos através da submissão das sementes a diferentes tempos de exposição ao ozônio, 0, 45 e 90 minutos. O preparo dos tratamentos se deu com a contagem e separação das sementes em caixas plásticas do tipo Gerbox® sem tampa, que foram assim alocadas dentro de caixas organizadoras de plástico com dimensões 41×29×25cm e capacidade de 20 litros. No interior deste recipiente, também foi inserido um cooler para uniformizar a circulação do gás dentro da caixa, e a mangueira do aparelho Ozone Generator®. O manual do ozonizador indicou capacidade de emissão de 600mg/h.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial 2×3, sendo dois lotes de sementes de rabanete, e três tempos de exposição.

Para a determinação do potencial fisiológico das sementes foram realizados os seguintes testes: avaliação precoce da raiz primária, germinação, e comprimento de plântulas.

A avaliação precoce da raiz primária foi feita junto ao teste de germinação. Este foi instalado por meio da distribuição de 50 sementes para cada repetição sobre papel mata borrão, umedecido com água destilada em 2,5 vezes sua massa seca, dentro de Gerbox®. As repetições foram mantidas em germinador do tipo Mangelsdorf, a 20°C durante quatro dias para a avaliação precoce da raiz primária, que correspondeu à porcentagem de sementes que apresentaram protrusão da raiz primária, e seis dias para avaliação da germinação, quanto ao percentual de plântulas normais (germinação) e anormais (BRASIL, 2009).

O teste de comprimento de plântulas foi instalado com 20 sementes para cada repetição, dispostas sobre papel mata borrão umedecido em 2,5 vezes sua massa seca, alocadas dentro de Gerbox®. Estes foram mantidos em germinador do tipo Mangelsdorf, durante seis dias a 20°C, envoltos por plástico preto para não haver interferência da luz. Foram avaliados aleatoriamente o comprimento de dez plântulas normais, sendo seus valores expressos em centímetros.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de Hartley e Shapiro-Wilk, assim verificado homogeneidade de variâncias e normalidade submetidos à análise de variância a 5% de significância. Para o fator tempo, quando significativo foi aplicado o teste Tukey ($p < 0,05$). Também foi realizada análise de componentes principais. As análises foram realizadas com o auxílio do programa R (R Development Core Team, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na análise de variância (Tabela 1) as características plântulas normais e os comprimentos de raiz, parte aérea e total não apresentaram significância para nenhuma das fontes de variação estudadas. A característica avaliação precoce da raiz primária apresentou significância somente para o fator tempo e a característica plântulas anormais significância para a interação lote x tempo.

O aumento no tempo de exposição ao gás ozônio, mostrou um aumento gradativo na protrusão da raiz primária, com diferenças encontradas entre o tempo de 90 minutos de exposição em relação a testemunha (Figura 1). Como não há significância da

interação (Tabela 1) para essa variável, os resultados evidenciam uma resposta semelhante em relação a ambos os lotes.

Tabela 1. Análise de variância para porcentagem de germinação (PN), avaliação precoce da raiz primária (APRP), plântulas anormais (PA), comprimento de raiz (CR), parte aérea (CPA) e total (CT) de plântulas, em lotes de sementes de rabanete submetidas a 0, 45 e 90 minutos de exposição ao ozônio. Londrina/PR, 2017.

Fontes de variação	Quadrado Médio					
	PN	APRP	PA	CR	CPA	CT
Lote (L)	0,04	1,50	7,04	0,63	0,13	1,31
Tempo (T)	48,29	2,04*	41,63	0,78	0,07	1,17
L * T	53,29	0,88	62,54*	0,72	0,55	1,34
Erro	17,38	0,56	13,96	0,71	0,25	1,30
Média	58,42	98,66	38,26	8,18	2,69	10,85
C.V. (%)	14,27	1,51	19,54	10,34	18,39	10,49

* Significativo a 5% pelo teste F ($p < 0,05$).

A ozonização é um método oxidativo, com capacidade para atuar como um processo de modificação química de amido. A germinação dificultada pelo endosperma em algumas espécies pode ser facilitada através da ação de algumas espécies reativas de oxigênio sobre o balanço hormonal entre ácido abscísico e ácido giberélico, desempenhando um papel fundamental no afrouxamento da parede celular e protrusão da raiz (EL-MAAROUF-BOUTEAU; BAILLY, 2008; KAUR et al., 2012).

O aumento da velocidade de germinação também foi encontrada por Rodrigues et al. (2015) em sementes de girassol e por Violleau et al. (2008) em sementes de milho exposta ao ozônio. (RODRIGUES et al., 2015; VIOLLEAU et al., 2008)

A tabela 2 mostra o desdobramento da interação entre lote \times tempo para a variável plântulas anormais. Em relação ao fator lote observou diferenças apenas para o tempo 90 minutos de exposição ao ozônio, com maiores percentuais encontrados no lote 1. Em comparação ao tempo de exposição somente foi verificada redução na porcentagem de plântulas anormais para o lote 2 no tempo de 90 minutos de exposição.

A diferença entre a qualidade dos lotes pode ser explicada pelo seu estado de deterioração (MARCOS FILHO, 2015). Conforme Marini et al. (2013) a deterioração das sementes não pode se restringir apenas à germinação e vigor, mas deve se atentar também às variações enzimáticas, em nível de membranas e atividade respiratórias. Em condições de maior atividade enzimática e respiratória, somadas a degradação de reservas pela ozonização, pode resultar em maior aproveitamento das reservas pelo embrião, e, conseqüentemente, a formação de um maior número de plântulas normais, com a redução do número de plântulas anormais (MARCOS FILHO, 2015; MARINI et al., 2013).

A análise univariada não considera a possível interação de uma variável sobre a outra, que em alguns casos pode ser determinante nos resultados finais. Com isso, análise multivariada é uma maneira promissora de indicar as respostas de dois ou mais fatores, sem perda de informação (BEZERRA NETO et al., 2007).

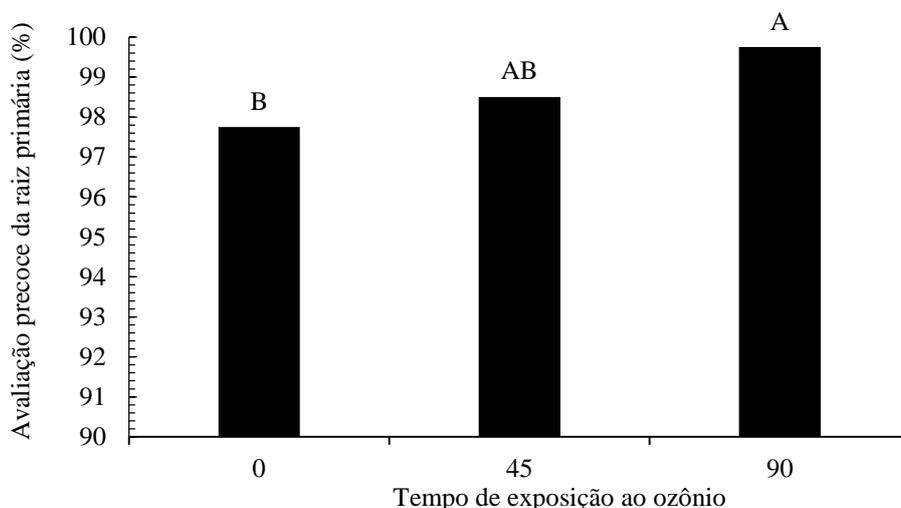


Figura 1. Avaliação precoce da raiz primária de diferentes lotes de sementes de rabanete submetidas a 0, 45 e 90 minutos de exposição ao ozônio. Londrina/PR, 2017.

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de significância.

Na figura 2 foi apresentado o *biplot* da análise de componentes principais (ACP), com uma explicação de 88,10 % da variabilidade contida nas variáveis iniciais, considerando os dois primeiros componentes.

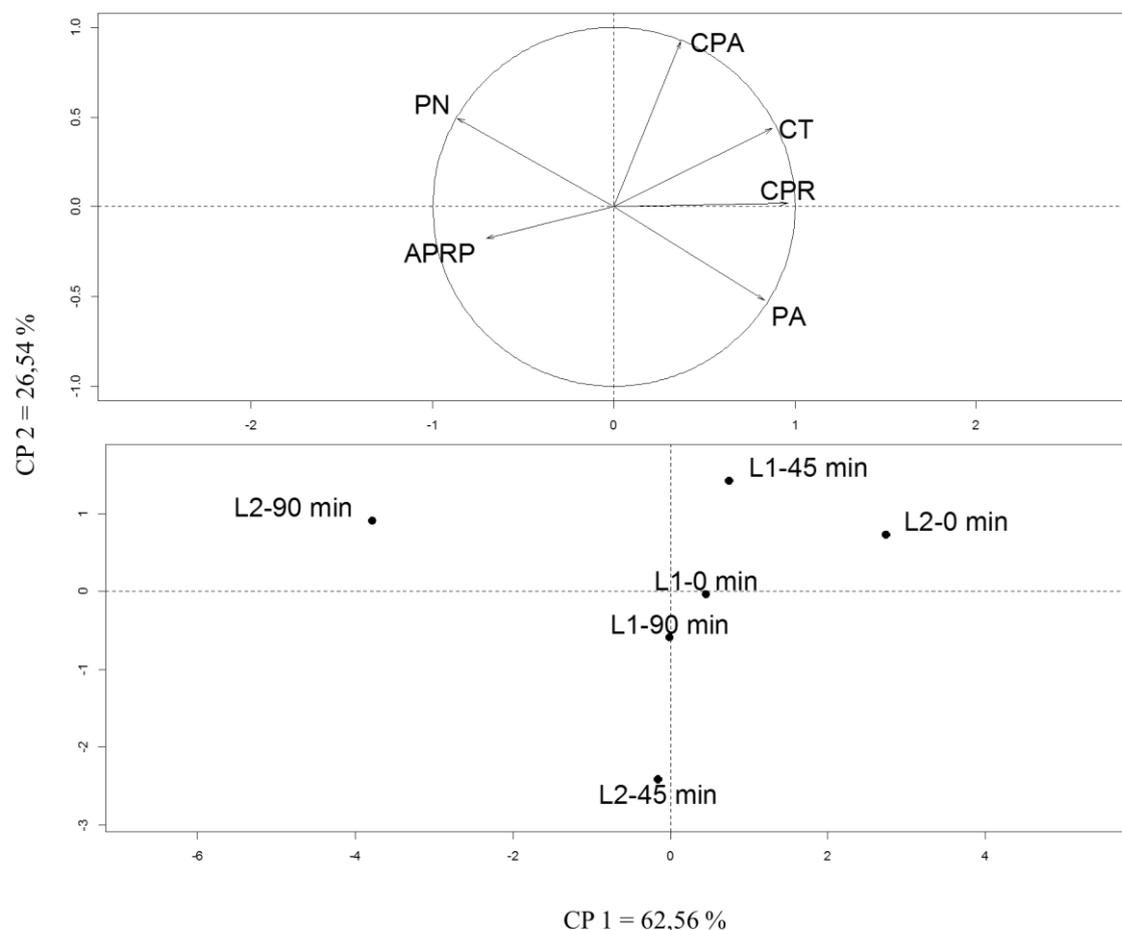
Tabela 2. Desdobramento da interação lote x tempo de exposição ao ozônio para a porcentagem de plântulas anormais em sementes de rabanete. Londrina/PR, 2017.

Lote	Tempo de exposição ao ozônio		
	0	45	90
1	39 aA	39 aA	41 aA
2	42 aA	44 aA	26 bB

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey e F a 5%, respectivamente.

Pela ACP observa-se associação do lote 2 exposto a 90 minutos a ozonização (L2-90min) e a porcentagem de plântulas normais, com uma correlação negativa com a porcentagem de plântulas anormais. Corroborando aos resultados encontrados na análise univariada.

Observou-se uma relação entre a característica avaliação precoce da raiz primária e a exposição a 90 minutos a ozonização para ambos os lotes, como também indicado pela análise univariada. Entretanto, essa variável apresentou uma associação negativa com as relacionadas ao comprimento (CPA, CPR e CT).



APRP: Avaliação precoce de raiz primária; PN: Plântulas normais; PA: Plântulas Anormais;
CPA: Comprimento de parte aérea; CPR: comprimento de raiz; CT: Comprimento total

Figura 2. Análise de componentes principais dos lotes de sementes (L1 e L2) de rabanetes submetidas a 0, 45 e 90 minutos de exposição ao ozônio, com base na distância euclidiana média padronizada. Londrina/PR, 2017.

A ação primária do ozônio na oxidação de amido pode favorecer o processo inicial da germinação, agindo diretamente sobre os lipídios de membrana e seu metabolismo, causando diferentes efeitos. Beneficamente a ozonização pode estimular a atividade lipolítica, contudo consequências indesejáveis como peroxidação lipídica tendem a ocorrer na célula vegetal (MOURA, 2014). Além disso, alterações nos balanços bioquímicos como por exemplo, efeitos sobre enzimas e sistemas enzimáticos e danos à membrana celular de organelas, acarretando em lise celular e de organelas. Conseqüentemente, estes efeitos danosos de diferentes tempos de exposição ao ozônio em diferentes espécies pode acarretar em aceleração na germinação e reflexos sobre o crescimento e alocação de biomassa (BULBOVAS et al., 2008).

CONCLUSÃO

Conclui-se com este estudo que a ozonização em sementes de rabanete indica aceleração da velocidade de germinação para o tempo 90 minutos de ozonização,

redução do número de plântulas anormais, e correlação negativa entre avaliação precoce de raiz e os comprimentos avaliados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALAKRISHNANA, P. A., ARUNAGIRIA, A., RAO, P. G., 2002 “Ozone Generation by Silent Electric Discharge and its Application in Tertiary Treatment of Tannery Effluent” **Journal of Electrostatics**, v. 56, pp. 77–86.
- BEZERRA NETO, F. et al. Desempenho de sistemas consorciados de cenoura e alface avaliados através de métodos uni e multivariados. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 514–520, 2007.
- BULBOVAS, P. et al. Avaliação da sensibilidade de plantas jovens de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. - Malvaceae) ao ozônio. **Hoehnea**, v. 35, n. x, p. 359–366, 2008.
- CAJAMARCA, S. M. N. **Ozonização como método alternativo na conservação de morango produzido em sistema orgânico**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2015.
- DA SILVA, S. B. et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 659–682, 2011.
- EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Oxidative signaling in seed germination and dormancy. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 3, p. 175–182, 2008.
- GLAZE, W. H., KANG, J.-W., CHAPIN, D. H. “The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation” **Ozone. Science & Engineering**, v. 9, pp. 335-352, 1987.
- GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 453–460, 2004.
- HARRISSON, J. F. **Ozone for Point-of Use, Point-of-Entry, and Small Water System Water Treatment Applications** –A Reference Manual, Water Quality Association, 86p, 27, 2000.
- KAUR, B. et al. Progress in starch modification in the last decade. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 2, p. 398–404, 2012.
- MAHMOUD, A.; FREIRE, R. S. Métodos emergentes para aumentar a eficiência do ozônio no tratamento de águas contaminadas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 198–205, 2007.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina, PR: 2015.
- MARINI, P. et al. Indicativos da perda de qualidade de sementes de arroz sob diferentes temperaturas através da atividade enzimática e respiratória. **Interciencia**, v. 38, n. 1, 2013.
- MOURA, D. **Estudo do metabolismo de lipídios de membrana e da expressão dos genes relacionados em cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp sob estresses abióticos combinados (seca/ozônio)**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2014.
- RODRIGUES, V. O. et al. Treating sunflower seeds subjected to ozonization. **Journal of Seed Science**, p. 202–210, 2015.
- ROZADO, A. F.; FARONI, L. R. D.; URRUCHI, W. M. I.; Guedes, R. N. C.; PAES, J. L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *tribolium cataneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n.3, p. 282-285, 2008.
- TIWARI, B. K. et al. **Application of ozone in grain processing** **Journal of Cereal Science**, 2010.
- VIOLLEAU, F. et al. Effect of Oxidative Treatment on Corn Seed Germination Kinetics. **Ozone: Science & Engineering**, v. 30, n. 6, p. 418–422, 2008.