

Metodologia alternativa ao teste de envelhecimento acelerado em sementes de feijão

Giovanni Luiz Franco^{1*}; Norma Schlickmann Lazaretti¹

¹Curso de Agronomia, Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Paraná.

^{1*}giovannifranco@hotmail.com

Resumo: Neste estudo objetivou-se procurar alternativas de temperatura e duração de estressamento da semente de feijão com o propósito de substituir o método atual por um mais rápido e com a mesma eficiência. O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG, Cascavel / PR, durante os meses de fevereiro e março de 2024. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. O Teste de envelhecimento acelerado foi realizado nas seguintes temperaturas e períodos: 41 °C por 72 h, 42 °C por 60 h, 43 °C por 48 h, 44 °C por 36 h e 45 °C por 24 h, sendo esses os tratamentos. Decorrido o período de exposição ao teste as sementes foram submetidas ao teste de germinação com quatro repetições. As variáveis avaliadas foram o percentual de vigor, com avaliação de plântulas normais, tamanho da raiz e parte aérea, e massa seca onde as mesmas plantas foram levadas à estufa com circulação de ar forçado na temperatura de 60 °C por 48h. Resultados semelhantes foram obtidos no percentual de vigor após decorridos 60, 48 e 36 horas a 42, 43 e 44 °C. Concluímos que, dentre os tratamentos realizados o tratamento 2, no qual as sementes foram submetidas a uma temperatura de 43 °C por 48 horas teve uma taxa de vigor estatisticamente igual ao método atualmente utilizado, sendo uma alternativa promissora que merece ser explorada, visando principalmente as rotinas de trabalho dos laboratórios.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; Teste de envelhecimento; Temperatura; Duração; Vigor

Alternativemethodology for evaluating vigor in beanseeds

Abstract: This study aimed to look for alternatives for temperature and duration of bean seed stress with the aim of replacing the current method with a faster one with the same efficiency. The experiment was carried out in the Seed Laboratory of Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG, Cascavel/PR, during the months of February and March 2024. The experimental design used was quite randomized, with five treatments and four replications. The accelerated aging test was carried out at the following temperatures and periods: 41 °C for 72 h, 42 °C for 60 h, 43 °C for 48 h, 44 °C for 36 h and 45 °C for 24 h, these being the treatments. After the period of exposure to the test, the seeds were subjected to the germination test with four replications. The evaluations evaluated were the percentage of vigor, with evaluation of normal plants, root and aerial part size, and dry mass where the same plants were taken to the greenhouse with forced air circulation at a temperature of 60 °C for 48 hours. Similar results were obtained in the percentage of vigor after 60, 48 and 36 hours at 42, 43 and 44 °C. We concluded that, among the treatments carried out, treatment 2, in which the seeds were applied at a temperature of 43 °C for 48 hours, had a vigor rate statistically equal to the method currently used, being a promising alternative that deserves to be explored, thinking mainly about laboratory work routines.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; Accelerate daging; Temperature; Duration; Force.

Introdução

O teste de envelhecimento de sementes é um processo utilizado para avaliar a qualidade e longevidade das sementes. Esse método simula condições naturais de armazenamento, acelerando o processo de envelhecimento a fim de prever a capacidade de germinação das sementes e emergência das plântulas. Esse teste foi desenvolvido por Delouche (1965) visando estimar o potencial de armazenamento de lotes de trevo e festuca.

Na atualidade, é utilizado por indústrias de sementes do mundo todo, visando avaliação do potencial fisiológico de sementes de grandes culturas e hortaliças. É um dos testes mais usados para avaliar vigor de sementes, superado apenas pelo teste de frio e tetrazólio (MARCOS FILHO, 2020). Trata-se de um importante aliado para elucidar informações sobre diferenças de vigor entre amostras analisadas, potencial de armazenamento e de emergência de plântulas em campo, ao passo que em estudo realizado por Santos, Menezes e Villela (2004) que investigaram o efeito do teste de envelhecimento acelerado em sementes de feijão, os resultados mostraram que a taxa de germinação diminuiu à medida que a duração do teste aumentou.

Para Copeland e McDonald (2001) o teste de vigor reúne diversas características essenciais para avaliar a vitalidade de sementes. Ele é rápido, econômico, simples e pode ser aplicado a diferentes tipos de espécies. Contudo, o período varia consideravelmente dependendo da cultura a ser testada. Abrahão e Toledo (1969) introduziram esse teste no feijão em uma tese de doutorado e concluíram que o tempo de 48 horas era satisfatório para avaliação.

A metodologia atual da ABRATES (Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes) para o teste de envelhecimento da semente de feijão é a realizada por AOSA (2002), utilizando a temperatura de 41 °C num período de 72 horas. No entanto, a utilização de temperaturas mais elevadas e a redução do período de envelhecimento são possibilidades que merecem atenção (MARCOS FILHO, 2020).

A descrição do teste de envelhecimento cita a possibilidade da utilização de temperaturas de 40 a 45 °C. Tómes, Tekrony e Egli (1988) perceberam que a elevação da temperatura promove mais efeitos sobre as sementes do que o período de envelhecimento. O que induz a possibilidade de diferentes combinações de testes de temperaturas e períodos de estressamento de sementes.

Ainda que o teste de envelhecimento acelerado tenha avançado consideravelmente rumo à padronização, em relação a muitas espécies, diversos estudos continuam em andamento com a finalidade de aperfeiçoar sua metodologia (MARCOS FILHO, 2020).

No intuito de sanar a necessidade de maiores estudos sobre o teste de vigor, neste estudo objetiva-se procurar alternativas de temperatura e duração de estresse da semente de feijão com o propósito de substituir o método atual por um mais rápido e com a mesma eficiência.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes do Centro Acadêmico Assis Gurgacz – FAG, Cascavel/PR, durante os meses de fevereiro e março de 2024, e foi utilizado a cultivar de feijão preto IPR Tuiuiu em forma de semente, recebida de produtor de sementes, sem nenhum tipo de tratamento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos de acordo com o descrito na Tabela 1, e com quatro repetições de 50 sementes, totalizando 20 unidades experimentais.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos combinando diferentes tempos e temperaturas na condução do teste de envelhecimento acelerado. Cascavel / PR, 2024.

Tratamento	Tempo	Temperatura
Test.	72 h	41 °C
T1	60 h	42 °C
T2	48 h	43 °C
T3	36 h	44 °C
T4	24 h	45 °C

Fonte: O autor, 2024.

O Teste de envelhecimento acelerado foi realizado pelo método gerbox, de acordo com metodologia descrita por Marcos Filho (2020), onde as sementes foram colocadas em gerbox sobre uma tela, com 40 mL de água destilada no fundo em incubadoras BOD, sendo submetidas aos tratamentos da Tabela 1.

Decorrido o período de exposição ao teste as sementes foram submetidas ao teste de germinação, sem fotoperíodo, com luz constante por cinco dias em germinador na temperatura de 25 °C, com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, distribuída em papel rolo umedecido com água equivalente a 2,6 vezes o peso do papel de germinação seco (BRASIL, 2009).

As variáveis avaliadas foram o vigor, tamanho da raiz, tamanho da parte aérea e massa seca das plântulas.

Para avaliar o vigor, após a montagem do teste nos rolos de papel e permanência por cinco dias no germinador, foram avaliados percentuais de plântulas normais, anormais e mortas.

Logo depois, no mesmo dia, para avaliação do tamanho da raiz e parte aérea, no mesmo teste foram separadas aleatoriamente 10 plântulas por repetição, as quais com o auxílio de régua milimétrica foram avaliados o tamanho da raiz e tamanho da parte aérea, e os resultados expressos em centímetros.

Já para a massa seca, as mesmas plantas sem os cotilédones foram depositadas em embalagem de papel Kraft e levadas à estufa com circulação de ar forçado na temperatura de 60 °C por 48 h. Decorrido esse período, as mesmas foram pesadas e os resultados expressos em gramas por plântula.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico SISVAR 5.8 (FERREIRA, 2019).

Resultados e Discussão

Na Tabela 2 são expressos os resultados obtidos nas avaliações visando uma metodologia alternativa para diminuir o tempo de condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de feijão, sendo as variáveis o percentual de vigor, tamanho da raiz, tamanho aéreo e massa seca das plântulas.

Tabela2 – Resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado de sementes de feijão submetidos a diferentes tempos e temperatura de estresse, com as avaliações de vigor, tamanho de raiz, tamanho de parte aérea e massa seca. Cascavel / PR, 2024.

	Tempo e Temperatura	Vigor (%)	Tamanho da raiz (cm)	Tamanho aéreo (cm)	Massa seca (g)
Test.	72 h 41 °C	85 ab	13,57 a	6,64 ab	0,0618 a
T1	60 h 42 °C	85 ab	11,78 a	5,60 a	0,0594 a
T2	48 h 43 °C	82 a	11,38 a	5,69 ab	0,0562 a
T3	36 h 44 °C	87 ab	13,51 a	7,31 b	0,0627 a
T4	24 h 45 °C	91 b	12,42 a	6,53 ab	0,0656 a
Médias		85,8	12,53	6,35	0,0611
CV (%)		5,86	13,62	13,81	11,99
DMS		7,22	2,45	1,26	0,0105

CV = Coeficiente de Variação. DMS = Diferença Mínima Significativa. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para o percentual de vigor houve significância, porém estatisticamente os tratamentos (T1 (85%), T2 (82%), T3 (87%) e T4 (91%)) apresentaram resultados iguais a testemunha

(85%). Esse resultado sugere que, embora tenha havido significância estatística, os tratamentos não tiveram um efeito significativo no vigor das sementes de feijão em comparação com a testemunha. Marcos Filho (2015) demonstrou em seu estudo que variações nos protocolos de teste, como diferentes tempos e temperaturas, podem não resultar em diferenças significativas no vigor das sementes, o que corrobora com nossos resultados. Marcos Filho (2020) destaca que a temperatura é um dos principais fatores que influencia o desempenho das sementes durante o teste de envelhecimento acelerado.

Para o tamanho da raiz não houve diferença significativa, onde os tratamentos apresentaram valores entre 11,38 (T2 48 h 43 °C⁻¹) e 13,57 (Test. 72 h 41 °C⁻¹) cm de raiz. O desempenho inicial das sementes após a semeadura a campo está diretamente ao vigor das mesmas, sendo um fator essencial para o rápido estabelecimento, que as raízes se alonguem rapidamente, visando a nutrição e estabelecimento da cultura (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

Os resultados obtidos no tamanho aéreo também apresentaram significância, onde os tratamentos T1 (60 h 42 °C⁻¹) apresentou 5,60 cm, e o T3 (36 h 44 °C⁻¹) 7,31 cm, sendo ambos iguais a testemunha. A significância estatística observada nos resultados do tamanho aéreo das plântulas nos tratamentos T1 (60 h a 42 °C) e T3 (36 h a 44 °C), comparados com a testemunha, sugere que as condições de estresse térmico podem ter influenciado o desenvolvimento das partes aéreas das plântulas de feijão. A diferença nos resultados entre os tratamentos T1 e T3 sugere que a magnitude e a duração do estresse térmico podem ter efeitos distintos sobre o desenvolvimento das plântulas de feijão.

Estudos têm demonstrado que diferentes combinações de temperatura e tempo de exposição ao estresse térmico podem afetar de forma diferencial o metabolismo das sementes e o crescimento das plântulas. O aumento da temperatura e do tempo de exposição ao estresse térmico pode desencadear respostas fisiológicas nas sementes, como a ativação de enzimas antioxidantes e o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que por sua vez podem afetar o metabolismo das sementes e a alocação de recursos para o crescimento das plântulas (BAILLY, EL-MAAROUF-BOUTEAU e CORBINEAU, 2008).

A massa seca apresentou apenas diferença numérica, com maior valor obtido no tratamento T4 (24 h 45 °C⁻¹) com 0,0656 g, e o T2 (48 h 43 °C⁻¹), o qual teve apenas 0,0562 g de massa seca dos cotilédones transferidos para o eixo raiz/hipocótilo/plúmula. A diferença numérica observada na massa seca das plântulas entre os tratamentos T4 (24 h a 45 °C) e T2 (48 h a 43 °C) sugere que as condições de estresse térmico influenciam transferência de massa seca nas sementes de feijão.

Diferenças na massa seca podem refletir variações na capacidade das sementes de mobilizar reservas durante a germinação. De acordo com Amaro *et al.* (2015), o teste de massa seca de plântulas, derivado do teste de germinação é uma opção viável para avaliar a qualidade fisiológica das sementes. Este método é de baixo custo, não requer equipamentos especiais ou treinamento adicional, e é relativamente rápido. Estudos têm demonstrado que as condições de estresse térmico podem afetar a expressão de genes relacionados ao metabolismo de carboidratos e lipídios nas sementes, influenciando assim a acumulação de biomassa durante a germinação (KIBINZA, VINEL e BAILLY, 2011). Portanto, a diferença na massa seca entre os tratamentos pode refletir não apenas variações na taxa de crescimento das plântulas, mas também diferenças na utilização de reservas durante a germinação em resposta ao estresse térmico.

Pesquisas anteriores destacam a importância de considerar diferentes combinações de temperatura e tempo de estresse no teste de envelhecimento acelerado de sementes de feijão. Por exemplo, estudos realizados por McDonalde Copeland (2012) demonstraram que o aumento da temperatura durante o teste de envelhecimento acelerado pode influenciar significativamente a germinação e o vigor das sementes de feijão. Além disso, Kucera *et al.* (2005) investigaram os efeitos do estresse térmico na dormência e germinação das sementes de feijão, destacando a importância de compreender as respostas fisiológicas das sementes a diferentes condições de temperatura.

O estresse térmico extremo pode induzir o acúmulo de espécies reativas de oxigênio e danos irreversíveis às estruturas celulares das sementes, comprometendo sua capacidade de germinação (KIBINZA, VINEL e BAILLY (2011). Além disso, o estresse térmico excessivo pode desencadear a inibição de enzimas antioxidantes e a peroxidação lipídica, levando a uma redução na viabilidade das sementes (BAILLY, EL-MAAROUF-BOUTEAU e CORBINEAU, 2008; BARBA-ESPÍN, HERNÁNDEZ e DIAZ-VIVANCOS, 2012).

Essas descobertas ressaltam a importância de entender os efeitos específicos da temperatura e duração do estresse no vigor das sementes, a fim de otimizar os protocolos de teste de envelhecimento acelerado e garantir a obtenção de resultados confiáveis e significativos.

Conclusão

Concluimos que, dentre os tratamentos realizados o tratamento 2, no qual as sementes foram submetidas a uma temperatura de 43 °C por 48 horas teve uma taxa de vigor

estatisticamente igual ao método atualmente utilizado, sendo uma alternativa promissora que merece ser explorada, visando principalmente as rotinas de trabalho dos laboratórios.

Referências

ABRAHÃO, J. T. M.; TOLEDO, F. F. Resultados preliminares de testes de vigor em sementes de feijoeiro. **Revista de Agricultura**, v.44, n. 132, p.160-163, 1969.

AMARO, H. T. R.; DAVID, A. M. S. S.; ASSIS, M. O.; RODRIGUES, B. R. A.; CANGUSSÚ, L. V. S.; OLIVEIRA, M. B. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 383-389, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (AOSA). **Seed vigor testing handbook revision**. Stillwater, OK: AOSA (Contribution 32), 2002. 88p.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intra cellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 806-814. 2008.

BARBA-ESPÍN, G.; HERNÁNDEZ, J. A.; DIAZ-VIVANCOS, P. Role of H₂O₂ in pea seed germination. **Plant Signaling & Behavior**, v.7, n. 2, p. 193-195, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP. 2000. 429p.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**, Kluwer Massachusetts: Academic Publishers, 4.ed. p.165-192, 2001.

DELOUCHE, J.C. Na accelerate aging technique for predicting the relatives to rability of crimson clover and tall fescue seed lots. **Agronomy Abstracts**, 1965. 40 p.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

KIBINZA, S.; VINEL, D.; BAILLY, C. Hydrogen peroxide involvement in germination of *Medicago truncatula* seeds under osmotic stress. **Annals of Botany**, v. 108, n. 1, p. 61-70. 2011.

KUCERA, B., COHN, M. A., & LEUBNER-METZGER, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, v. 15, n. 4, p. 281-307, 2005.

MCDONALD, M. B.; COPELAND, L. O. **Seed Technology Laboratory. Seed production: principles and practices**. CABI. 2012.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2ª. ed. Londrina, PR. ABRATES, 2015. 660 p.

MARCOS FILHO, J. Teste de Envelhecimento Acelerado. p. 185 – 246 In.: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J. DE B.; MARCOS FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. 601p.

SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.110-119, 2004.

TOMES, L.J.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. Factors influencing the tray accelerate aging test for soy bean seed. **Journal of Seed Technol**, v.12, n.1, p.24-36, 1988.