

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
CURSO DE AGRONOMIA**

AMANDA GABRIELA RECK

**MELHORAMENTO E ANÁLISE DE SEMENTES EM LABORATÓRIOS
OFICIAIS**

**LAGES, SC
2022**

AMANDA GABRIELA RECK

MELHORAMENTO E ANÁLISE DE SEMENTES EM LABORATÓRIOS OFICIAIS

Relatório de Estágio Curricular Obrigatório apresentado ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Orientador(a): Cileide Maria Medeiros
Coelho Arruda de Souza

LAGES, SC

2022

AMANDA GABRIELA RECK

MELHORAMENTO E ANÁLISE DE SEMENTES EM LABORATÓRIOS OFICIAIS

Relatório de Estágio Curricular Obrigatório apresentado ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheira Agrônoma .

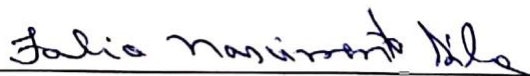
Banca Examinadora



Dra Cileide Maria Medeiros Coelho
Universidade do Estado de Santa Catarina
Professor Orientador – Presidente da Banca



Dra Daniele Nerling
Universidade do Estado de Santa Catarina



Dr Fabio Nascimento da Silva
Universidade do Estado de Santa Catarina

Lages-SC, 14 de Julho de 2022.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela coragem dada a mim para seguir em busca desse sonho e por se fazer presente em todos meus passos.

Agradeço a meus pais por sempre me incentivarem, pelas palavras de força, pelos conselhos e amor que a mim dedicaram nessa caminhada, não existirão palavras suficientes para expressar minha gratidão, amor e respeito por vocês. Ao meu namorado, pelo apoio, carinho, e compreensão pela distância.

Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina, pela qualidade de ensino e a ótima formação recebida, agradecimento especial ao Centro de Ciências Agroveterinárias, pelas oportunidades e pelo acolhimento.

Agradeço a Embrapa Trigo pela oportunidade, ao meu supervisor Dr. Luiz Eichelberger, pela paciência e por todo conhecimento a mim transmitido. Aos companheiros de trabalho Taymara, Carlos, Junior Colla, Vladirene, e entre outros que foram essenciais para o meu crescimento durante esse período.

RESUMO

RECK, Amanda Gabriela. **MELHORAMENTO E ANÁLISE DE SEMENTES EM LABORATÓRIOS OFICIAIS**. 2022. Graduação em Agronomia (Relatório de Estágio) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, 2022.

A Embrapa Trigo é uma importante aliada ao desenvolvimento da agricultura brasileira, não se limitando apenas à cultura do trigo, também realiza pesquisas para desenvolver novas cultivares das culturas de inverno em geral, como aveia, cevada, centeio, triticale, canola, e apresenta um importante trabalho com culturas de verão, como milho e soja de região fria. O estágio curricular obrigatório é um componente indispensável para a obtenção do grau de bacharelado no curso de Agronomia. O presente relatório trata dos dois estágios realizados, o primeiro na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (Embrapa Trigo) em Passo Fundo – RS, que ocorreu com foco na área de sementes, onde acompanhou-se as atividades rotineiras realizadas no Laboratório Oficial de Análise de Sementes (Laso), a produção de semente genética, principalmente de trigo (*Triticum aestivum* L.), e atividades a campo, como vistorias em campos de pesquisa de sementes, demarcação da área, semeadura e colheita de cultivares já presentes no mercado e daquelas ainda em fase de pesquisa. Além disso, observou-se atividades em outros departamentos da empresa, como na área de melhoramento genético e de beneficiamento de sementes. Durante o período do estágio, foi possível acompanhar a rotina de atividades dentro de um laboratório, entre elas o recebimento e numeração de amostras, a realização de testes de germinação, teste de vigor, análise de pureza, determinação de outras sementes por número, peso de mil sementes. Em particular para sementes de soja (*Glycine max* L.) realizou-se o teste de tetrazólio, teste de peroxidase e avaliação de outras cultivares através da diferença de coloração do hilo. A segunda parte do estágio obrigatório foi realizado no Laso do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (Udesc), onde pode-se realizar atividades laboratoriais de rotina semelhantes às realizadas no Laso da Embrapa Trigo, além disso foram realizados testes como o de hipoclorito de sódio, determinação do grau de umidade e o teste de germinação em areia. Com a realização do estágio foi possível adquirir conhecimento

teórico e prático sobre os testes realizados pelo laboratório, além disso, as atividades à campo, como a semeadura, o acompanhamento do ciclo de desenvolvimento de culturas como trigo e soja e a colheita, foram importantes para agregar conhecimento relacionado à assistência técnica.

Palavras-chave: Pesquisa. Cultivares. Produtividade. Trigo. Soja. Cevada.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Recebimento e homogeneização das amostras	18
Figura 2 - Etapas da análise de pureza em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	20
Figura 3 – Determinação de outras sementes por número em cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.).....	21
Figura 4 - Contador mecânico de sementes	23
Figura 5 – Placa perfurada para a semeadura.....	26
Figura 6 – Semeador a vácuo.....	27
Figura 7 – Promoção de pré-germinação para posterior plantio em baldes	28
Figura 8 – Equipamentos utilizados para a germinação	28
Figura 9 – Plântulas de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.) germinadas e aptas para a avaliação.....	31
Figura 10 – Plântulas normais de trigo	32
Figura 11 – Plântulas anormais de trigo	32
Figura 12 – Verificação de outras cultivares em soja (<i>Glycine max</i> L.).....	34
Figura 13 – Preparação para a realização do teste de peroxidase.....	35
Figura 14 – Reação do teste de peroxidase.....	36
Figura 15 – Preparação das amostras para a realização do teste de tetrazólio.....	38
Figura 16 – Lavagem das sementes e distribuição das mesmas em papel toalha para posterior avaliação	39
Figura 17 – Interpretação dos resultados do teste de tetrazólio.....	40
Figura 18 – Teste de envelhecimento acelerado em soja	41
Figura 19 – Emasculação em plantas de trigo	44
Figura 20 – Tratamento de sementes de trigo com fungicida e inseticida de ação protetora (piraclostrobina), sistêmico (tiofanato metílico) e de contato e ingestão (fipronil)	45
Figura 21 – Semeadura de trigo em parcelas	46
Figura 22 – Colheita de soja e classificação das sementes	47

Figura 23 – Etapas de recebimento das sementes na UBS	51
Figura 24 – Classificação das sementes	52
Figura 25 – Embalagem e armazenamento das sementes classificadas	53
Figura 26 – Realização do teste de hipoclorito de sódio em soja	55
Figura 27 – Determinação do grau de umidade em espécie florestal	57
Figura 28 – Plântulas de soja aptas para a avaliação	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 DESCRIÇÃO DO LOCAL.....	12
3 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES.....	15
3.1 LABORATÓRIO OFICIAL DE ANÁLISE DE SEMENTES (LASO) DA EMBRAPA TRIGO.....	15
3.1.1 Recebimento e protocolo de amostras.....	17
3.1.2 Homogeneização e obtenção da amostra de trabalho	17
3.1.3 Armazenamento das amostras.....	18
3.1.4 Análise de pureza.....	19
3.1.5 Determinação de outras sementes por número.....	20
3.1.6 Peso de mil sementes (PMS)	21
3.1.7 Determinação do percentual de germinação	23
3.1.7.1 Duração do teste	29
3.1.7.2 Avaliação do teste e demonstração dos resultados	29
3.1.8 Verificação de outras cultivares.....	33
3.1.8.1 Teste enzimático da peroxidase	34
3.1.9 Teste de tetrazólio.....	36
3.1.10 Teste de envelhecimento acelerado.....	40
3.1.11 Análise de vigor.....	41
3.1.12 Emissão dos resultados de análise	42
3.2 ATIVIDADES A CAMPO	42
3.2.1 Melhoramento para a produção de sementes genéticas.....	42
3.2.2 Produção de semente genética	44
3.2.2.1 Ensaio preliminares de linhagens (EPL)	47
3.2.2.2 Ensaio preliminar em rede (EPR)	48
3.2.2.3 Ensaio de valor de cultivo e uso (VCU).....	48
3.2.3 Unidade de beneficiamento de sementes (UBS)	49
3.3 LABORATÓRIO OFICIAL DE ANÁLISE DE SEMENTES (LASO) DO CAV- UDESC	54
3.3.1 Teste de hipoclorito de sódio	54
3.3.2 Determinação do grau de umidade pelo método de estufa.....	56
3.3.3 Teste de germinação em areia	58
4 CONCLUSÕES	59

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
----------------------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A primeira parte do estágio curricular obrigatório foi realizada na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (Embrapa Trigo), na cidade de Passo Fundo, estado do Rio Grande do Sul, no período entre 14/03/2022 até 15/06/2022, totalizando 456 horas.

A Embrapa visa apresentar soluções de pesquisa e inovações para a agricultura e, conseqüentemente, para a sociedade brasileira, apesar de existirem várias unidades descentralizadas estrategicamente. Isto aproxima a empresa dos polos produtivos, todas trabalham com conectividade, compartilhando informações entre si, com o objetivo de desenvolver as tecnologias necessárias e adaptadas à região em que se encontra a unidade.

As principais atividades realizadas foram voltadas à área de produção de sementes, desde as análises de rotina realizadas no Laboratório Oficial de Análise de Sementes (Laso), que estão descritas no presente relatório, até todo o processo de produção de semente genética, incluindo as etapas iniciais. Estas etapas envolvem o melhoramento genético, a experimentação, a multiplicação de linhagens e cultivares, até a fase final de beneficiamento e comercialização. Dessa forma, foi possível adquirir experiência prática em atividades laboratoriais e também em atividades à campo, através da participação na realização do manejo cultural.

Embora o Laboratório de Análise de Sementes seja acreditado e oficial, a maioria absoluta das análises realizadas são para demandas de pesquisa da própria Embrapa e quando necessário, realiza análises para órgãos fiscalizadores. As grandes culturas analisadas pelo laboratório são ervilha, feijão, milho, soja, sorgo, trigo. Também são analisadas algumas culturas forrageiras como alfafa, aveia, azevém, canola, capim sudão, centeio, cevada, cornichão, ervilhaca, festuca, milheto, nabo forrageiro, trevo e triticale.

A segunda parte do estágio obrigatório foi realizada no Laso do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, nesse período pode-se acompanhar as atividades rotineiras do laboratório, semelhantes às realizadas pelo Laso da Embrapa Trigo. Além disso outros testes foram realizados, como o de hipoclorito de sódio, determinação do grau de umidade e o teste de germinação em areia. A área de sementes é de extrema importância para a

agricultura, pois cada semente apresenta atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos que irão atuar diretamente no bom desenvolvimento de uma lavoura e em altas produtividade a campo.

A realização deste estágio teve como objetivo vivenciar as atividades agronômicas em uma empresa de âmbito nacional, acompanhando a rotina dentro de um laboratório de sementes, a produção de sementes genéticas e a realização do manejo cultural a campo, aplicando na prática o conhecimento adquirido na universidade.

2 DESCRIÇÃO DO LOCAL

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (Embrapa Trigo) fica localizada no município de Passo Fundo, no norte do estado do Rio Grande do Sul, na BR 285, KM 174, município que possui uma economia que tem como base o agronegócio. A maior parte das áreas agrícolas são voltadas à produção de grãos, principalmente de soja, milho e trigo.

Criada em 1974 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), a Embrapa Trigo faz parte das 43 unidades da Embrapa, descentralizadas pelo Brasil. Possui 200 colaboradores, sendo que 44 são pesquisadores, 37 são analistas e 119 são técnicos e assistentes, todos com o mesmo objetivo, buscar inovações para a maior produção agrícola de forma sustentável.

Quanto à estrutura institucional, é composta pelo chefe geral Jorge Lemainski, chefe adjunto de pesquisa e desenvolvimento José Eloir Denardin, chefe adjunto de transferência de tecnologia Giovani Stefani Faé, e o chefe adjunto de administração Denilson Focking.

A empresa está dividida em três equipes que caracterizam os grupos de pesquisa, o primeiro é o Núcleo de Melhoramento e Biotecnologia, que visa desenvolver cultivares adaptadas a região, que apresentem boa produtividade e que sejam adequadas para o uso no produto final. Também há o Núcleo de Manejo e Nutrição das plantas que tem como objetivo aprimorar o uso do ambiente. E por fim há o Núcleo de Proteção de Plantas, que busca superar o impacto das doenças e pragas no campo, buscando novas alternativas ao manejo integrado de pragas e doenças. Cada núcleo é bem estruturado e possui equipe qualificada tanto na parte laboratorial quanto na parte de campo, dessa forma, se torna possível realizar as atividades de pesquisa sobre a respectiva área de estudo.

A empresa trabalha para que todas essas tecnologias desenvolvidas sejam adotadas pelo setor produtivo, e isso é possível através do setor denominado transferência de tecnologia. Por meio deste, os resultados das pesquisas alcançam o produtor rural através de parcerias com empresas, instituições públicas e privadas.

A unidade possui dois campos experimentais, o principal fica junto a sede, no município de Passo Fundo – RS, e possui cerca de 306 ha. Em sua infraestrutura possui o prédio do setor administrativo, auditórios, biblioteca, salas de reuniões, casas de vegetação, telados, banco de germoplasma ativo de trigo, cevada, triticale, centeio

e aveia, unidades de multiplicação e de beneficiamento de sementes, estação agrometeorológica, almoxarifado, garagens para veículos e máquinas agrícolas, depósito de defensivos agrícolas, casa de apoio, e além disso conta com laboratórios de agrometeorologia, biotecnologia, entomologia, fisiologia, fitopatologia, manejo e práticas culturais, plantas daninhas, pós-colheita, sementes e solos. O campo experimental junto a sede tem como objetivo realizar pesquisas na área de melhoramento genético de culturas de inverno e soja, e a produção de sementes genéticas e práticas culturais.

O outro campo experimental é conhecido como área II, possui 110,94 ha e fica no município de Coxilha – RS, e tem sido usado principalmente para a experimentação em culturas de inverno e soja, melhoramento de trigo, experimentos que possuem maior duração na área de solos, experimentos de Valor de Cultivo e Uso (VCU), e pesquisas com a cultura do milho e produção de sementes básicas.

A Embrapa Trigo desenvolve um trabalho efetivo em melhoramento genético, onde o principal objetivo é gerar cultivares que contribuam para o desenvolvimento da agricultura nacional, visando atender diferentes regiões de produção e diferentes finalidades de mercado, como por exemplo, trigo para indústria de massas e pão, para indústria de biscoitos, para alimentação animal e cultivares com duplo propósito (pastejo e produção de grãos).

Além disso, a unidade participou de várias outras iniciativas com a intenção de fomentar a agricultura brasileira, como o desenvolvimento de novas estratégias de controle de pragas, doenças e plantas daninhas, o controle biológico de pulgões do trigo, o manejo conservacionista do solo e o aperfeiçoamento das recomendações de adubação.

O Laboratório Oficial de Análise de Sementes (Laso) do CAV-UDESC iniciou suas atividades no ano de 2016 e em novembro de 2019 após processo de auditoria tornou-se oficial e está credenciado junto ao Registro Nacional de Sementes e Mudas (RENASEM) para a realização de análise física, fisiológica, genética e sanitária de sementes. Além disso, o laboratório possui a acreditação junto ao INMETRO na norma ISO/IEC 17025. É coordenado pela Dra. Cileide Maria Medeiros Coelho, tem como responsável técnica, gerente de qualidade e analista de sementes a Dra. Daniele Nerling, e conta com bolsistas de extensão na equipe.

O laboratório reúne todas as atividades de ensino, pesquisa e extensão desenvolvidas na universidade, na área de produção, tecnologia e fisiologia de

sementes. O laboratório possui no escopo 28 espécies, entre elas estão grandes culturas, forrageiras, olerícolas e florestais.

3 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

As atividades desenvolvidas durante o período do estágio foram relacionadas principalmente às atividades de rotina realizadas dentro de um Laboratório Oficial de Análise de Sementes (Laso). Somadas as atividades laboratoriais pode-se realizar atividades a campo, como vistorias em campos de pesquisa de sementes, demarcação da área, semeadura e colheita de cultivares já presentes no mercado e daquelas ainda em fase de pesquisa.

Também foi possível acompanhar todas as etapas da produção de sementes genéticas, iniciando pela preparação para a semeadura por meio do tratamento de sementes com o fungicida e inseticida pertencente ao grupo químico piraclostrobina, tiofanato metílico e fipronil, demarcação da área e semeadura, até vistorias na cultura à campo, colheita, classificação e armazenagem das sementes. Além disso, pode-se realizar atividades no setor de melhoramento genético, como emasculação em plantas de trigo e explicação teórica sobre o processo de polinização.

3.1 LABORATÓRIO OFICIAL DE ANÁLISE DE SEMENTES (LASO) DA EMBRAPA TRIGO

O trabalho realizado por um laboratório de análises de sementes é de grande importância, visto que através dos testes, é possível avaliar a qualidade de sementes representativa de um lote de sementes, determinar o percentual de germinação, fornecer informações úteis para a comercialização e dar suporte a programas de controle de qualidade.

O laboratório teve sua criação no início da década de 70 e em 23 de julho de 1981 foi credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), como laboratório Oficial de Análise de Sementes (Laso), através da portaria nº 182. Isso possibilitou ao laboratório atender as demandas da Embrapa e servir como apoio ao sistema de produção de sementes do Mapa. O responsável técnico pelas atividades realizadas no laboratório é o Engenheiro Agrônomo Dr. Luiz Eichelberger, além dele o laboratório conta com uma engenheira agrônoma que é responsável técnica substituta e dois analistas de sementes.

Em 30 de junho de 2017, o laboratório obteve a acreditação junto ao Inmetro na norma ISO/IEC 17025. Essa norma é exclusiva para os laboratórios de ensaios e calibração, e atesta que ele executa suas atividades com precisão e fornece resultados com qualidade e confiabilidade. Devido a isso, o laboratório realiza as análises de sementes seguindo as boas práticas profissionais, atendendo as necessidades dos clientes com êxito.

Atualmente, o laboratório realiza as análises de sementes de grandes culturas e algumas culturas forrageiras (alfafa, aveia, azevém, canola, capim sudão, centeio, cevada, cornichão, ervilha, ervilhaca, feijão, festuca, milheto, milho, nabo forrageiro, soja, sorgo, trevo, trigo e triticale), atendendo às necessidades de pesquisa da Embrapa. Realiza também análises de amostras recebidas de produtores credenciados no Sistema Nacional de Sementes e Mudas, nas classes de sementes básicas e certificadas e serve como apoio ao Mapa para a fiscalização do comércio, importação e exportação de sementes.

O laboratório é bem estruturado, conta com sala de recepção, sala do responsável técnico, sala de divisão de amostras, sala de pureza, sala de germinação, câmara de germinação e câmara fria. Além disso, possui todos os equipamentos necessários para a execução das análises solicitadas, os quais são operados por pessoas autorizadas e possuem uma ficha de controle. Equipamentos como balanças e termômetros, são submetidos a controle periódico de checagem para assim manter a confiabilidade dos resultados.

Além de contar com profissionais qualificados para a realização e interpretação de resultados, todos os testes no laboratório são feitos seguindo o manual de Regras para Análises de Sementes - RAS (Brasil, 2009). Atualmente são realizadas análises em aproximadamente 8.000 amostras por ano, incluindo análises de pesquisa e oficiais, as principais são análise de germinação, o peso de mil sementes, análise de pureza, determinação de outras sementes por número, verificação de outras cultivares e o teste de tetrazólio.

Para a realização do estágio no Laboratório Oficial de Análise de Sementes da Embrapa Trigo se fez necessária a assinatura de um termo de confidencialidade, com objetivo de manter determinadas informações em sigilo.

3.1.1 Recebimento e protocolo de amostras

As amostras que entram no Laso são identificadas e protocoladas em uma ficha de análise, com um número em sequência crescente acompanhado pelo respectivo ano. Essa ficha acompanha a amostra durante todas as avaliações solicitadas até a emissão do laudo. As amostras oficiais, que são provenientes de programas de certificação ou de fiscalização devem ser pesadas antes de iniciar qualquer procedimento, para averiguar se atendem ao peso mínimo exigido pelo manual de RAS (Brasil, 2009). As amostras de pesquisa são identificadas e protocoladas, mas não são pesadas, pois são amostras de melhoramento com menor quantidade de sementes, não é possível fazer as repetições indicadas para análise oficial e os testes são realizados conforme a necessidade do pesquisador responsável.

Todas as atividades que são realizadas no Laso seguem as RAS (Brasil, 2009), as portarias do Mapa e o Manual de Qualidade ISO 17025, exceto as análises de pesquisa que são realizadas com algumas alterações. No final de cada análise efetuada, com os dados já lançados, a ficha deve ser assinada pelo responsável técnico do laboratório.

3.1.2 Homogeneização e obtenção da amostra de trabalho

A homogeneização é a mistura dos constituintes da amostra, feita na amostra média que é recebida do cliente, com o objetivo de que a amostra de trabalho contenha todos os componentes da amostra na mesma proporção. Dessa forma, é possível obter uma amostra representativa e uniforme para a realização das análises.

O processo de homogeneização é feito através do divisor de amostras ou homogeneizador, onde a amostra total é passada três vezes, juntando as metades no final de cada divisão (Figura 1). Após isso, a amostra é dividida novamente para a obtenção das quantidades exigidas para cada análise, formando a amostra de trabalho. O peso mínimo da amostra de trabalho varia conforme a espécie e está descrito na RAS (Brasil, 2009). O peso final tem tolerância sempre de 3% para mais.

No fim deste processo, a amostra de trabalho é colocada em uma embalagem identificada com o número da amostra que foi protocolada.

Figura 1 - Recebimento e homogeneização das amostras a) Amostras recebidas pelo laboratório, b) Checagem da balança, c) Homogeneização da amostra em divisor centrífugo tipo Gamet d) Pesagem para verificar se o peso mínimo foi atingido



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.3 Armazenamento das amostras

O restante das sementes e as sobras de cada amostra de trabalho, que não devem ser descartadas, recompõe a amostra original e são armazenadas em câmara fria e seca, durante o período de um ano, servindo como contra amostra, ou seja, como material para reanálises futuras, caso se faça necessário o esclarecimento de dúvidas.

A câmara fria e seca deve permanecer em uma temperatura que varia de 10°C a 15°C e a umidade relativa deve permanecer entre 35% e 50%, para manter a

qualidade fisiológica da semente e ao mesmo tempo controlar pragas de armazenamento sem a necessidade de expurgo. Devido ao laboratório ser acreditado pela ISO/IEC 17025, são feitas leituras na câmara fria e câmara de germinação três vezes ao dia e ao final do dia são anotadas as mínimas e as máximas, não podendo ultrapassar o limite de 2° C, tanto para mais quanto para menos.

3.1.4 Análise de pureza

O principal objetivo desta análise é determinar a composição percentual por peso e a identificação das diferentes espécies de sementes encontradas e o material inerte da amostra, e por consequência, a do lote de sementes. A amostra de trabalho é separada em três componentes, sementes puras, outras sementes e material inerte, conforme descrito pela RAS (Brasil,2009).

Sementes puras são todas as sementes e/ou unidades de dispersão pertencentes a espécie que está em análise, que é declarada pelo requerente ou identificada como a predominante na amostra, incluindo todas as variedades botânicas e cultivares da espécie analisada. Este conceito inclui sementes inteiras, maduras e não danificadas e sementes quebradas, que apresentem tamanho maior que a metade do seu tamanho original.

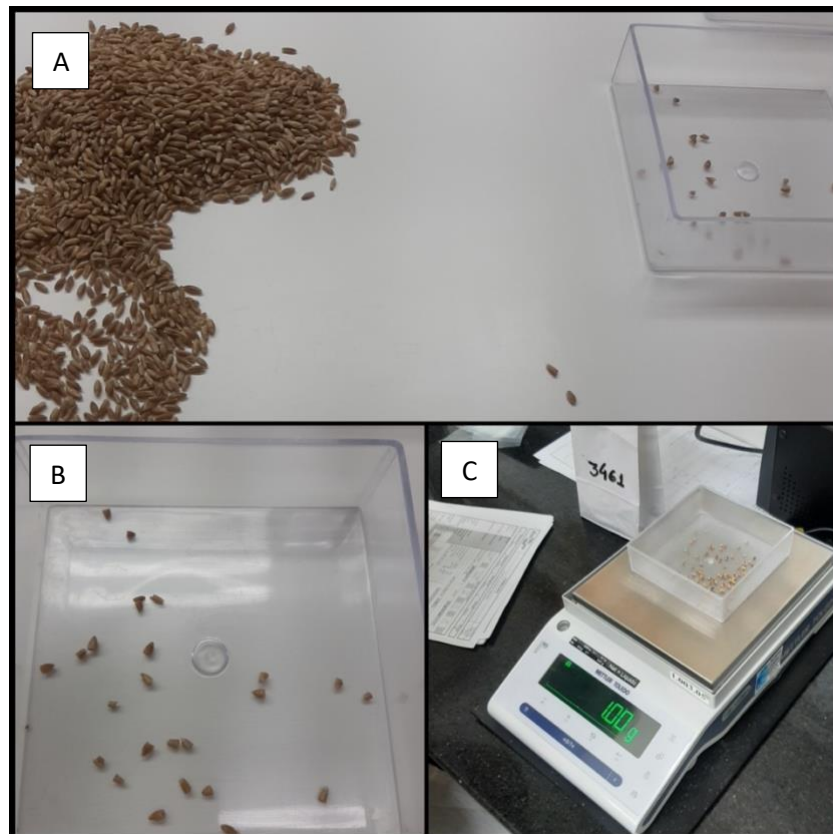
O componente conhecido como outras sementes, caracteriza todas as sementes e/ou unidades de dispersão de qualquer espécie cultivada ou silvestre, incluindo nocivas e pequenos bulbos ou tubérculos de plantas invasoras que não façam parte da espécie em análise. Caso haja outras sementes que estejam severamente danificadas ou mal desenvolvidas, elas devem ser incluídas no material inerte.

O material inerte compreende materiais como torrões de solo, areia, pedras, insetos, palhas, folhas, detritos e outros fragmentos de plantas. Inclui-se nesse componente partes de sementes da espécie em análise que apresentem tamanho menor que a metade do seu tamanho original.

A análise de pureza é realizada em uma sala do laboratório específica. A primeira etapa desse processo é pesar a amostra de trabalho. Em seguida, ela é colocada sobre a mesa para a separação dos componentes citados. No fim desse processo, todas as frações são pesadas: material inerte, outras sementes e a amostra de sementes puras, a soma das frações compõe o peso final. Cada componente, após

ser pesado, tem seu peso registrado na ficha de análise da respectiva amostra (Figura 2). As outras sementes encontradas são identificadas com o auxílio da coleção de espécies e são registradas também em número.

Figura 2 - Etapas da análise de pureza em trigo (*Triticum aestivum* L.) a) Separação dos componentes, b) Material inerte encontrado, c) Balança utilizada para pesagem



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.5 Determinação de outras sementes por número

Tem por objetivo complementar a análise de pureza, estimando o número de outras sementes, inclusive bulbilhos e tubérculos presentes na amostra que não sejam da mesma espécie que está em análise.

O termo outras sementes, conforme descrito na RAS (Brasil,2009), caracteriza todas as sementes e/ou unidades de dispersão de qualquer espécie cultivada ou silvestre, incluindo nocivas e pequenos bulbos ou tubérculos de plantas invasoras que não façam parte da espécie em análise. Não se incluem nesse conceito sementes mal

desenvolvidas ou severamente danificadas, pois estas devem ser incluídas no material inerte da amostra (Figura 3).

Quando são encontradas outras sementes, estas devem ser classificadas em nocivas toleradas ou nocivas proibidas, segundo a IN nº46, de 24 de setembro de 2013, publicada pelo Mapa, devem ser quantificadas e deve ser feito o registro de seu nome botânico. As outras sementes encontradas são colocadas em saquinhos plásticos separadamente e guardadas junto à contra amostra.

Figura 3 – Determinação de outras sementes por número em cevada (*Hordeum vulgare* L.)



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.6 Peso de mil sementes (PMS)

O peso de mil sementes apresenta duas principais funções, antes da semeadura ele é feito para calcular qual será a densidade da semeadura, e após a colheita, ele é utilizado como parâmetro para quantificar os componentes de rendimento, pois dá ideia da qualidade, maturidade e sanidade da semente. O PMS é influenciado pelo grau de umidade das sementes, por isso, é importante que elas

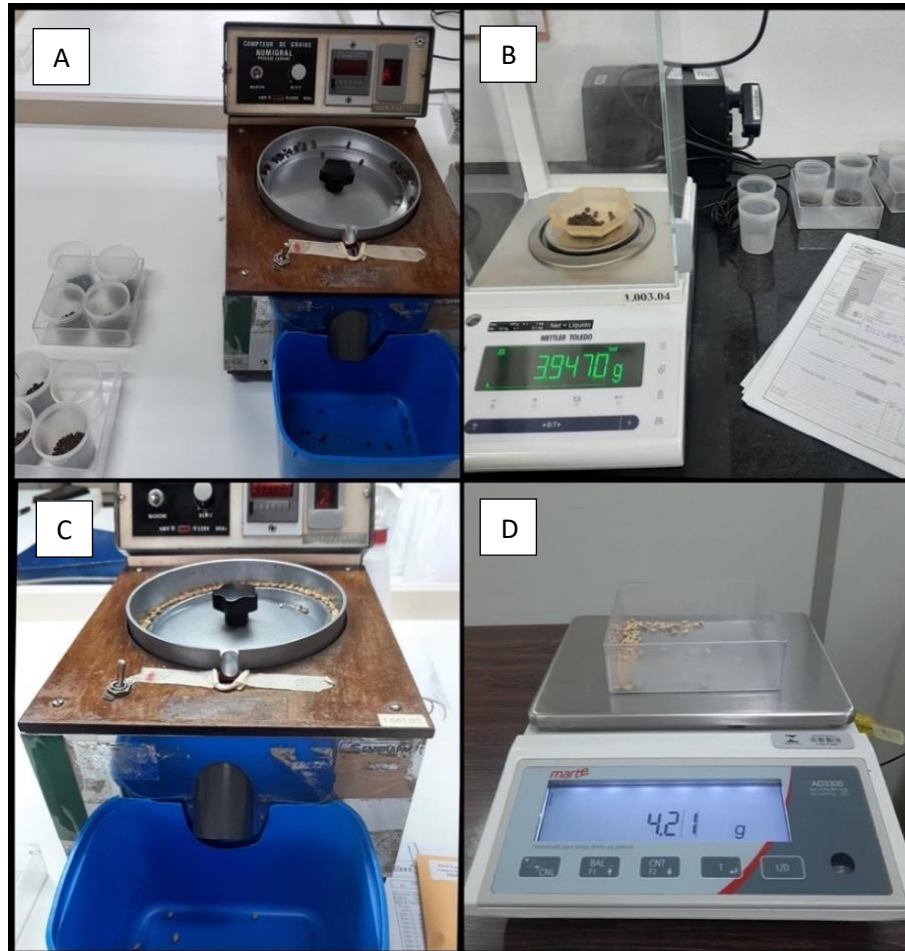
sejam enviadas ao laboratório com o teor de umidade adequado, que varia conforme a espécie, mas para a maioria das espécies analisadas pelo laboratório esse valor é de 13%.

A amostra de trabalho deste teste são as sementes puras, para amostras na fase de pesquisa, são feitas duas repetições de 100 sementes cada, já para amostras oficiais, em fase de comercialização ou já no mercado, são feitas oito repetições de 100 sementes cada (Figura 4). Ambas são pesadas em gramas, o peso é registrado utilizando o número de casas decimais indicado na RAS (Brasil, 2009) para cada amostra de trabalho.

A contagem é feita ao acaso, manualmente ou utilizando contadores mecânicos. Geralmente espécies como trigo, cevada e soja, utiliza-se o contador mecânico, já espécies como aveia e azevém, a contagem é feita manualmente devido ao menor tamanho das sementes e a baixa precisão do sensor do contador mecânico de sementes.

Os cálculos e a apresentação dos resultados são feitos conforme a RAS (Brasil, 2009), sendo calculada a variância, o desvio padrão e o coeficiente de variação que é de 6% para espécies palhentas e 4% para outras espécies, todo esse processo é feito automaticamente em planilhas do Excel. O peso vai ser registrado na ficha de análise da amostra em questão.

Figura 4 - Contador mecânico de sementes a) Contagem de 8 repetições da amostra oficial, b) Pesagem de cada repetição da amostra oficial, c) Contagem de 2 repetições da amostra de pesquisa, d) Pesagem de cada repetição da amostra de pesquisa



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.7 Determinação do percentual de germinação

O teste de germinação determina o máximo potencial germinativo de um lote de sementes, e tem como objetivos principais a obtenção de informações que irão determinar o valor para semeadura a campo e possibilitar comparar a qualidade de diferentes lotes de sementes. Segundo a RAS (Brasil, 2009), a germinação de sementes é a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis.

Os parâmetros do teste, como substrato para semeadura, equipamentos utilizados no teste, temperatura, necessidade de quebra de dormência, período que a amostra deve permanecer na câmara de germinação para contagem, são definidos de acordo com a espécie analisada, seguindo as instruções da RAS (Brasil, 2009), no capítulo 5, quadro 5.1.

Para a realização desse teste é usada a fração sementes puras, resultantes da análise de pureza. Para análises de amostras em fase de pesquisa são utilizadas 200 sementes, através de 2 repetições de 100 sementes, devido à baixa quantidade de sementes disponível, já para análises oficiais, em que há maior disponibilidade de sementes, são utilizadas 400 sementes, e na maioria das vezes são feitas 4 repetições de 100 sementes.

O substrato utilizado para os testes é o papel, chamado de papel germitest, se caracteriza por ser um papel toalha especial para germinação de sementes, isento de impurezas, microrganismos e toxicidade. O papel é preparado com antecedência, é umedecido algumas horas antes do uso, com água limpa e com um pH variável entre 6,0 e 7,5, caso a água não atenda essas características, pode ser usada água destilada ou deionizada. A quantidade de água depende do tamanho da semente, mas pode ser calculada utilizando a relação volume de água (mL) por peso do substrato (g). Para a maioria das espécies a quantidade equivale a 2,0 - 3,0 vezes o peso do substrato. O substrato é usado na forma tipo rolo de papel (RP), onde as sementes são colocadas entre duas ou mais folhas umedecidas em forma de rolo, agrupadas de quatro em quatro e colocadas na posição vertical no germinador.

Nos testes realizados com sementes maiores, como milho, feijão ou soja, a semeadura é feita com auxílio da placa perfurada (Figura 5). Para sementes maiores o número de repetições é maior, geralmente são feitas 4 repetições com 50 sementes na fase de pesquisa e 8 repetições com 50 sementes para amostras oficiais, ou seja, na fase de comercialização.

Para sementes menores, como trigo, aveia, cevada, é utilizado o semeador a vácuo (Figura 6). A placa com as sementes é colocada sob o substrato, o vácuo é interrompido e assim as sementes ficam distribuídas uniformemente no substrato.

Ainda em casos de pesquisa, quando solicitado, as sementes germinadas serão transplantadas para baldes, para que assim possa ocorrer a superação de dormência, a semeadura é feita manualmente, a distribuição é feita através da

visualização a olho para que a quantia distribuída sob o substrato seja adequada para que as sementes germinem sem haver competição (Figura 7).

Além do substrato e equipamentos utilizados para a semeadura, também são usados para a realização desse teste estufas para germinação com termoperíodo e fotoperíodo e germinadores (tipo Mangelsdorf) (Figura 8). Equipamentos usados no teste como bandejas plásticas, vidraria, pinças, devem ser lavados com água e sabão neutro para evitar contaminação, e os germinadores geralmente em um intervalo de 30 dias precisam ser lavados e desinfetados, com água, sabão líquido, água sanitária e álcool.

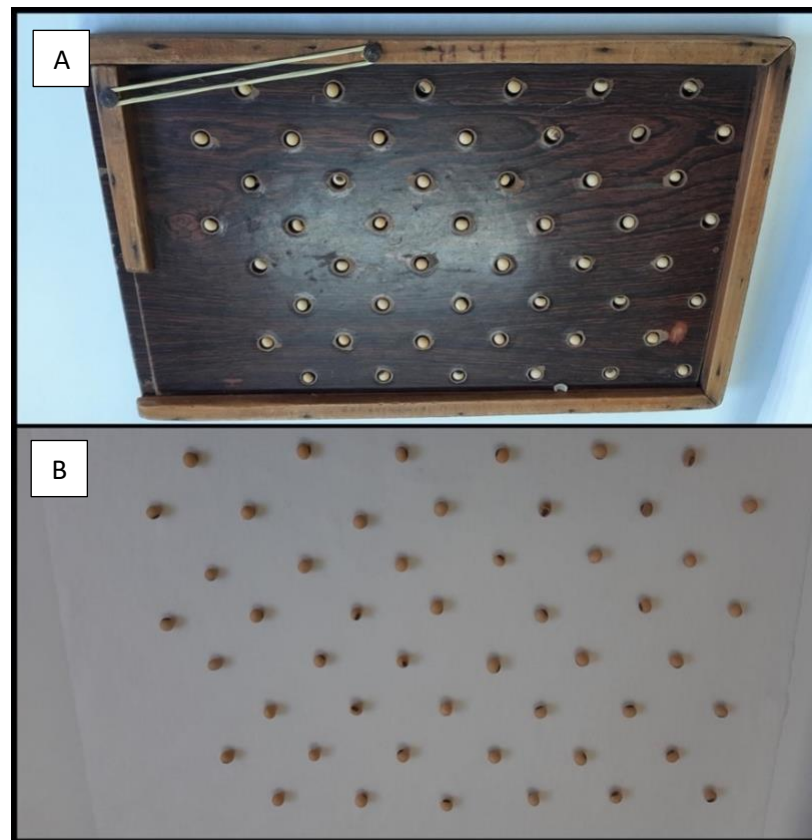
Quanto ao germinador, para evitar que tenha evaporação em excesso da água do substrato, a umidade relativa do ar no germinador deve se manter entre 90 e 95%, com água na cuba do germinador, a temperatura interna deve seguir as exigências de cada espécie segundo a RAS (Brasil, 2009). A temperatura precisa se manter uniforme no interior do germinador, a variação não deve ser maior que 2°C, tanto para mais quanto para menos. Já a temperatura da câmara de germinação fica a 20° C, e pode ter variação de 3° C para mais ou para menos.

A luz da câmara de germinação é estabelecida conforme a RAS (Brasil, 2009), e mesmo que não seja exigida é recomendada para favorecer o desenvolvimento das estruturas das plântulas e facilitar a avaliação dos resultados, dessa forma, as lâmpadas da câmara são controladas por um temporizador que faz com que elas permaneçam acessas durante 12 horas a cada ciclo de 24 horas. Segundo a RAS (Brasil, 2009), mesmo que algumas espécies não necessitem de luz, as “Plântulas que crescem em condição de completa escuridão são estioladas e hialinas e, muitas vezes mais sensíveis ao ataque de microrganismos. Além disso certos defeitos como a deficiência de clorofila não podem ser detectados”.

Por motivos como dormência fisiológica, dormência física ou substâncias inibidoras, muitas sementes podem não germinar ao final do teste, caso se tenha conhecimento que a espécie apresente dormência antes da realização do teste, deverá ser usado um ou mais tratamentos indicados pela RAS (Brasil, 2009) para a superação da mesma. Se não houver conhecimento de dormência, o teste de germinação pode ser realizado sem o tratamento, mas se esta for observada durante o teste inicial, o teste de germinação deve ser repetido usando um ou mais tratamentos para superar a dormência conforme a RAS (Brasil, 2009).

A repetição do teste de germinação (reteste) deverá ser feita em amostras oficiais que não atinjam o mínimo que o padrão estabelecido pelo Mapa determina, no caso da soja, precisa apresentar no mínimo 80% de germinação, e em trigo no mínimo 70% de germinação. Após o reteste é utilizado o valor do teste de germinação mais alto para a emissão dos resultados.

Figura 5 – Placa perfurada para a semeadura a) Uso do gabarito, b) Distribuição das sementes sobre o substrato



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 6 – Semeador a vácuo a) Sementes distribuídas sobre a placa, b) Placa colocada sobre o substrato, c) Sementes distribuídas sobre o substrato após a interrupção do vácuo



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 7 – Promoção de pré-germinação para posterior plantio em baldes



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 8 – Equipamentos utilizados para a germinação a) Germinador, b) Estufa para germinação com termoperíodo e fotoperíodo, c) Câmara de germinação



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.7.1 Duração do teste

A duração do teste de germinação para cada espécie é indicada no capítulo 5, quadro 5.1 da RAS (Brasil, 2009), e é estabelecida através da contagem final do número de dias. Nessa contagem não está incluído a etapa de pré-tratamento, que tem por finalidade superar a dormência.

No laboratório, ao fim do número mínimo de dias estabelecido para a contagem, caso tenha sido obtida a germinação máxima, já é feita a avaliação dos resultados. Se no final do teste apenas algumas sementes iniciaram a germinação, o teste pode ser prolongado por mais sete dias ou até a metade do período descrito, para testes mais demorados.

Quando há muitas sementes não germinadas ou em estado inicial de germinação, que não apresentam desenvolvimento suficiente para serem avaliadas ou tenham muitas anormalidades, estas devem permanecer no substrato por período adicional para se ter certeza dos resultados, é anotado o número de plântulas normais, sementes mortas ou plântulas infectadas, e estas são eliminadas.

3.1.7.2 Avaliação do teste e demonstração dos resultados

A avaliação das plântulas normais, anormais, sementes mortas e dormentes, é feita de acordo com o capítulo 5 da RAS (Brasil, 2009). O desenvolvimento das estruturas essenciais das plântulas deve ser suficiente para permitir a avaliação correta e a diferenciação entre plântulas normais e anormais (Figura 9).

Plântulas normais são aquelas que apresentam potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais quando em condições favoráveis (Figura 10). São divididas em: plântulas intactas, estas apresentam todas as estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas, proporcionais e saudáveis; plântulas com pequenos defeitos, que apresentam pequenos defeitos em suas estruturas essenciais, mas que mostrem um desenvolvimento satisfatório e equilibrado, quando comparadas a uma plântula intacta do mesmo teste; e plântulas com infecção secundária, que estão seriamente deterioradas devido a presença de fungos ou bactérias, são classificadas como normais, se ficar evidente que a própria semente não é a fonte da infecção e se todas as estruturas essenciais estiverem presentes.

Plântulas anormais, segundo a RAS (Brasil, 2009), são aquelas que não mostram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, mesmo crescendo em condições favoráveis (Figura 11). As seguintes plântulas são classificadas como anormais: plântulas danificadas, que apresentam qualquer uma das suas estruturas essenciais ausentes ou tão danificadas que não possa ocorrer desenvolvimento proporcional; plântulas deformadas, que tenham desenvolvimento fraco, ou com distúrbios fisiológicos, ou com estruturas essenciais deformadas, ou desproporcionais; plântulas deterioradas, com qualquer uma de suas estruturas essenciais muito infectadas ou muito deterioradas, como resultado de uma infecção primária. Em soja é utilizada a regra dos 50%, se mais de 50% dos cotilédones estiverem deteriorados a plântula deve ser considerada anormal.

As sementes não germinadas podem ser divididas em: sementes duras, conhecidas como sementes dormentes devido a impermeabilidade do tegumento, pois permanecem sem absorver água por um período mais longo que o normal e se apresentam no final do teste com aspecto de sementes recém colocadas no substrato. Ao se verificar a presença de sementes duras no final do teste de germinação, elas deverão permanecer no substrato por um período adicional de até sete dias juntamente com aquelas que ainda se encontram intumescidas ou em estado inicial de germinação; as sementes dormentes são as sementes que embora viáveis não germinam, mesmo quando colocadas nas condições especificadas para a espécie em teste. Nem todas as sementes classificadas como dormentes ao final do teste de germinação são viáveis, podendo haver entre elas sementes mortas. A viabilidade das sementes classificadas como dormentes pode ser verificada pelo teste de tetrazólio. Como são várias as causas que determinam a dormência, são também vários os métodos empregados nos laboratórios, para proporcionar a germinação dessas sementes. Os métodos mais conhecidos encontram-se descritos em 5.7 e recomendados no Quadro 5.1 das RAS (Brasil, 2009).

Sementes mortas são as sementes que no final do teste não germinam, não estão duras, nem dormentes, geralmente estão amolecidas, atacadas por microrganismos, e não apresentam nenhum sinal de início de germinação. Em algumas circunstâncias, sementes não germinadas podem ser classificadas como sementes vazias, sementes sem embrião ou sementes danificadas por insetos.

Dessa forma, durante a contagem final é anotado o número de plântulas normais, anormais, sementes duras e mortas, e o resultado de cada um desses

componentes é expresso no Boletim de análise de sementes oficial (BASO), que é feito com menos frequência pelo Laso da Embrapa Trigo, no Boletim de Análise de Sementes (BAS) ou Informativo de resultados (IR) em número inteiro e porcentagem. Quando for material de pesquisa a emissão dos resultados é feita em uma planilha de resultados.

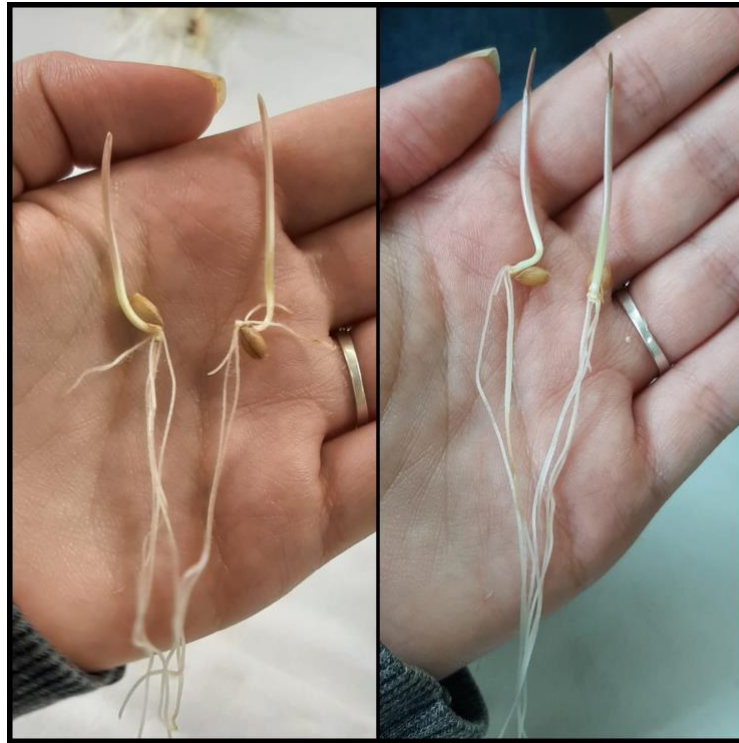
Tratamentos utilizados para superar dormência, substrato e temperaturas utilizadas no teste são anotados nos campos correspondentes do BAS.

Figura 9 – Plântulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) germinadas e aptas para a avaliação



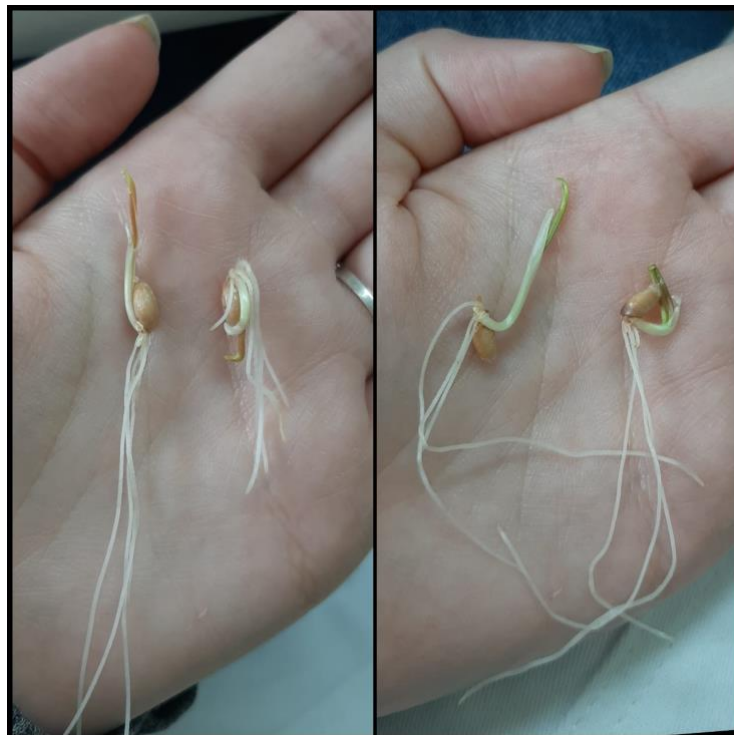
Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 10 – Plântulas normais de trigo



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 11 – Plântulas anormais de trigo



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

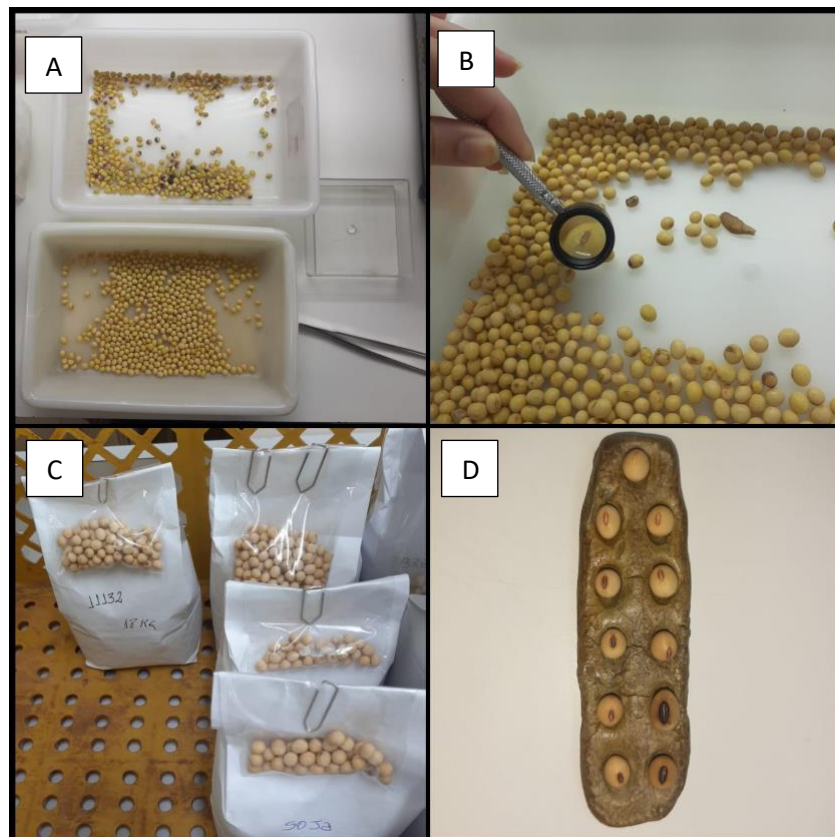
3.1.8 Verificação de outras cultivares

Essa análise é realizada em amostras de sementes de certas espécies em que os padrões de qualidade da espécie incluam tolerância máxima para verificação de outras cultivares por número. Embora não exigido pelos padrões da cultura, o Laso realiza essa análise para todos os ensaios com sementes de soja, para conferência do “*roguing*” realizado a campo. Essa conferência permite facilitar o processo para se atingir pureza de uma cultivar, visto que quando outras cultivares são retiradas da amostra no laboratório, o trabalho de “*roguing*” no campo se torna facilitado.

Para realização dessa análise, são observadas visualmente as características morfológicas, como tamanho e forma da semente e coloração e brilho do hilo, através da visualização direta ou com auxílio de lupas e microscópios adequados (BONATO, Emídio Rizzo, 2003). Para isso é indicado o exame visual direto apenas com luz natural, e sob a lupa (Figura 12). Para características químicas, as sementes devem ser tratadas com reagentes adequados, no caso da soja (*Glycine max* L.) utiliza-se a solução alcoólica de guaiacol à 0,5% e a solução aquosa de água oxigenada 40 volumes (H₂O₂), a reação de cada semente deve ser anotada.

Quando são encontradas sementes de outras cultivares, estas são colocadas em pequenas embalagens de plástico e com auxílio de um clip colocadas junto a amostra avaliada. O resultado obtido é expresso em número de outras sementes encontradas.

Figura 12 – Verificação de outras cultivares em soja (*Glycine max* L.) a) Visualização direta de características morfológicas, b) Visualização de coloração de hilo com auxílio de uma lupa, c) Sementes de outras cultivares encontradas guardadas separadamente, d) Diferentes colorações de hilo



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.8.1 Teste enzimático da peroxidase

Este teste é realizado em soja e é caracterizado pelas enzimas encontradas na maioria dos tecidos vivos dos vegetais, e é no tegumento das sementes de soja que se encontra em maior concentração, onde varia de acordo com a cultivar, permitindo a identificação de misturas com outras cultivares.

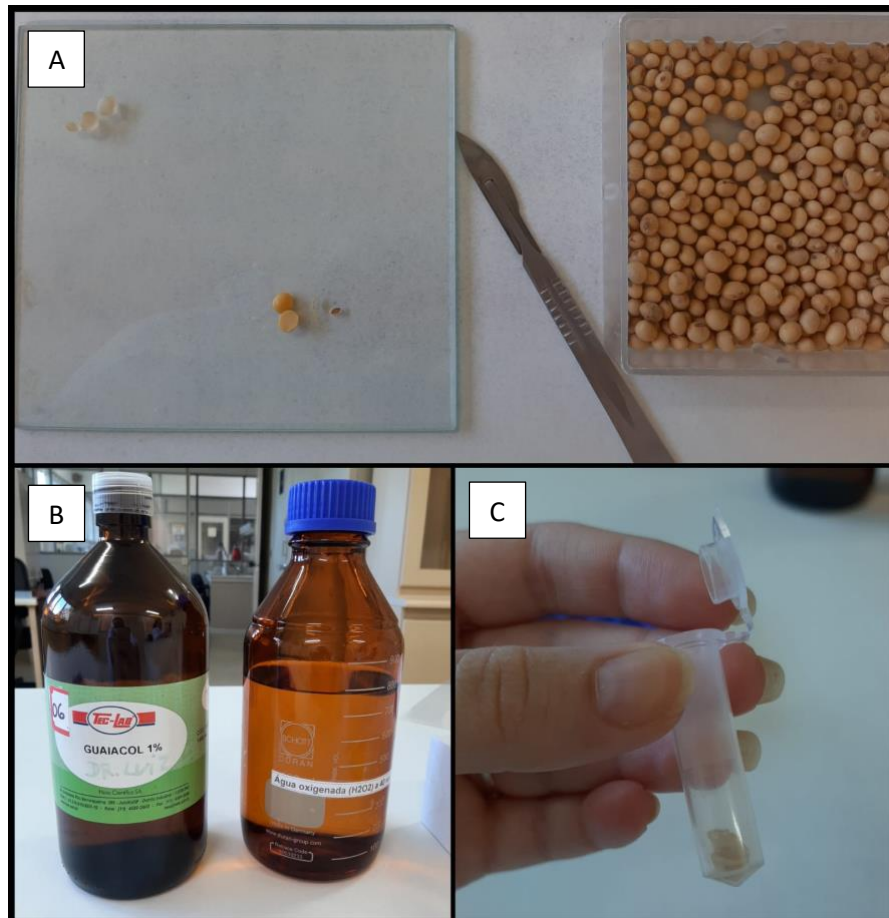
Com isso é possível dividir as cultivares em dois grupos, um grupo que apresenta alta atividade, que é resultado da presença de pelo menos um alelo dominante, chamado de reação positiva, e outro com baixa atividade, resulta da presença do par recessivo, chamado de reação negativa. Essa característica é usada

para identificação de cultivares de soja e é exigida para o registro e proteção, porque é um descritor da cultivar.

O teste é feito na fração sementes puras, obtida da análise de pureza, são feitas 4 repetições de 200 sementes de cada amostra com o auxílio de um bisturi é retirado o tegumento das sementes cuidando para não deixar resíduo dos cotilédones, cada tegumento é colocado em um tubo de ensaio, e neste são adicionadas 10 gotas de solução de guaiacol 0,5% sobre o tegumento (Figura 13). Após dez minutos, é colocado uma gota de água oxigenada (H_2O_2), 40 volumes líquida, e se espera durante um minuto, se a solução e o tegumento adquirirem a cor avermelhada, a reação à peroxidase é positiva, caso contrário, se a solução permanecer incolor, a reação é negativa (Figura 14).

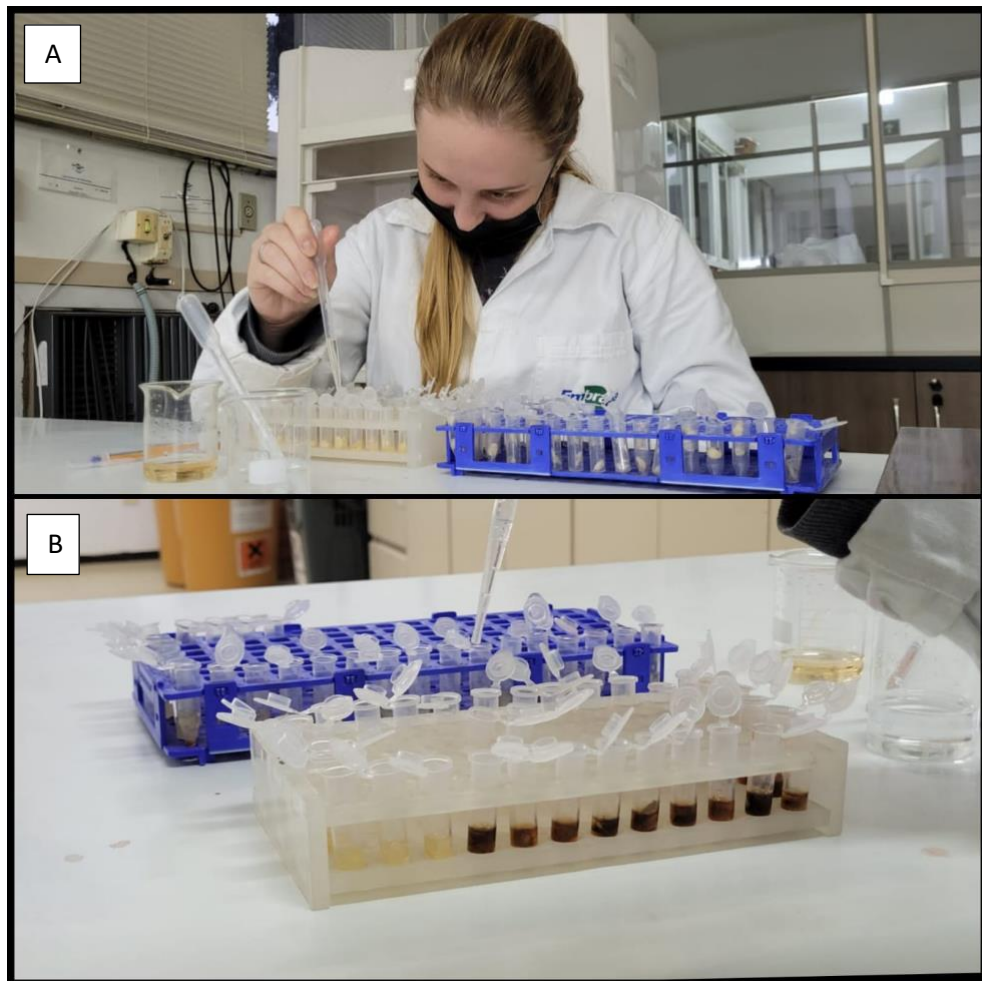
O resultado do teste de peroxidase é anotado na ficha de análise da amostra.

Figura 13 – Preparação para a realização do teste de peroxidase a) Retirada do tegumento, b) Reagente utilizados, c) Tegumento colocado em tubo de ensaio



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 14 – Reação do teste de peroxidase a) Distribuição da solução nas amostras, b) Reação da peroxidase negativa e positiva



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.9 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio tem como objetivo determinar a viabilidade e o vigor das sementes, em espécies como soja que foi a espécie analisada, e pode ser realizado em milho (*Zea mays* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), por exemplo. Também pode ser utilizado quando as sementes necessitam ser semeadas logo após a colheita, quando apresentam dormência ou para tirar dúvidas encontradas no teste de germinação, como a presença de muitas plântulas anormais.

A reação do tetrazólio ocorre devido a redução da molécula do sal a um composto vermelho chamado trifenílformazan nos tecidos vivos, pelas enzimas desidrogenases ativas, que catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias,

responsáveis pela respiração celular. A coloração da reação com composto vermelho carmim é indicação positiva da viabilidade da semente, porque significa que há atividade respiratória, caso a semente não esteja viável, ela não irá reagir e consequentemente não irá colorir (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998).

O teste é feito na fração semente pura obtida na análise de pureza, em quatro repetições de 100 sementes ou 8 repetições de 50 sementes, quando se tratar de análise de pesquisa, pode-se usar menos sementes.

O teste inicia com o preparo das sementes, através do pré-umedecimento, utilizando a técnica umedecimento lento, que é feito 16 horas antes da coloração, as sementes são pré-umedecidas em rolo de papel conforme descrito para o teste de germinação. Há vários métodos de preparação e estes estão descritos na RAS, capítulo 6, item 6,5, a recomendação do método mais apropriada para cada espécie também está no capítulo 6, no quadro 6.1 das RAS (Brasil, 2009).

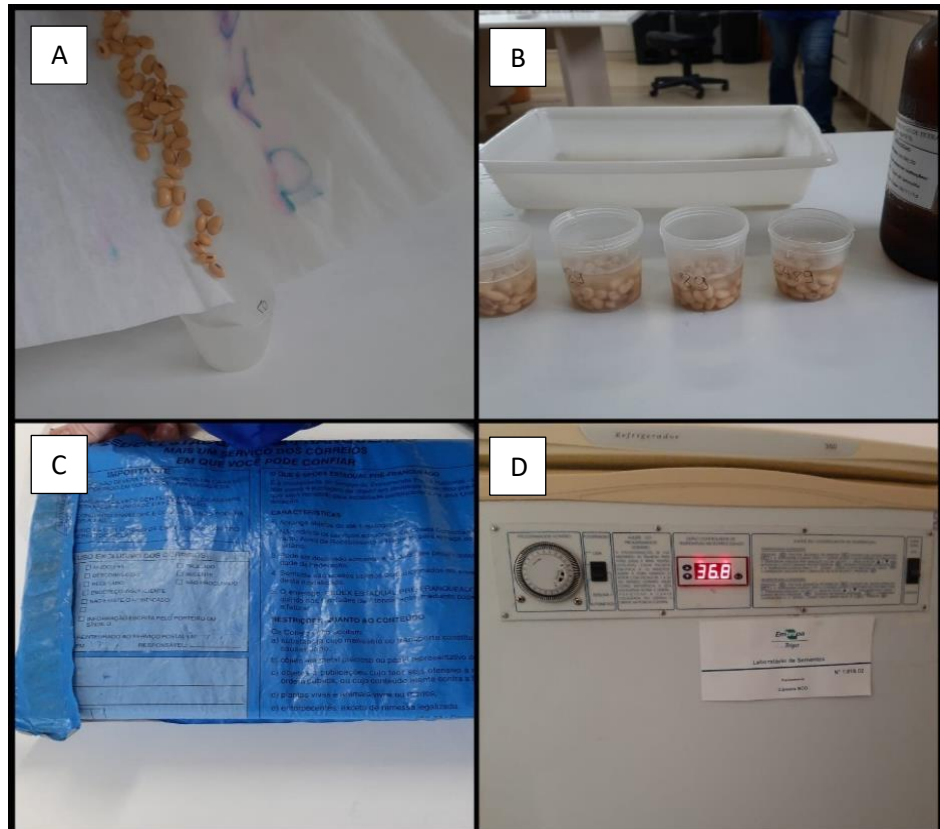
Após o preparo as sementes são expostas à solução de tetrazólio, com concentração e tempo de exposição recomendados no quadro 6.1 e no item 6.4 do capítulo 6 da RAS (Brasil, 2009). O laboratório utiliza a solução na concentração de 0,075%, e as sementes ficam em torno de 3 horas imersas na solução de tetrazólio.

As sementes são colocadas em um ambiente totalmente escuro, tendo em vista que a luz ocasiona redução do sal, em geral se utiliza uma pequena bandeja de plástico envolvida em papel carbono e dentro desta são colocados os potes com as sementes cobertas pela solução (Figura 15). Após o período de exposição as sementes são retiradas e lavadas em água corrente (Figura 16), a avaliação é feita de acordo com as instruções da RAS, capítulo 6, item 6.7, página 229, e o guia de avaliação da página 294 a 303 da RAS (Brasil, 2009).

Após a identificação e contagem das sementes viáveis (Figura 17), a avaliação de vigor é feita através de cálculos e os resultados são anotados na ficha de análise, conforme descrito por KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO (1999).

Figura 15 – Preparação das amostras para a realização do teste de tetrazólio

a) Sementes pré-umedecidas sendo colocadas nos potes, b) Sementes imersas na solução de tetrazólio, c) Sementes cobertas pela solução colocadas em bandeja envolvida em papel carbono, d) Bandeja colocada em estufa para germinação com termoperíodo e fotoperíodo



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 16 – Lavagem das sementes e distribuição das mesmas em papel toalha para posterior avaliação



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 17 – Interpretação dos resultados do teste de tetrazólio a) Semente viável, b) Dano mecânico, c) Dano por umidade, d) Dano por percevejo



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

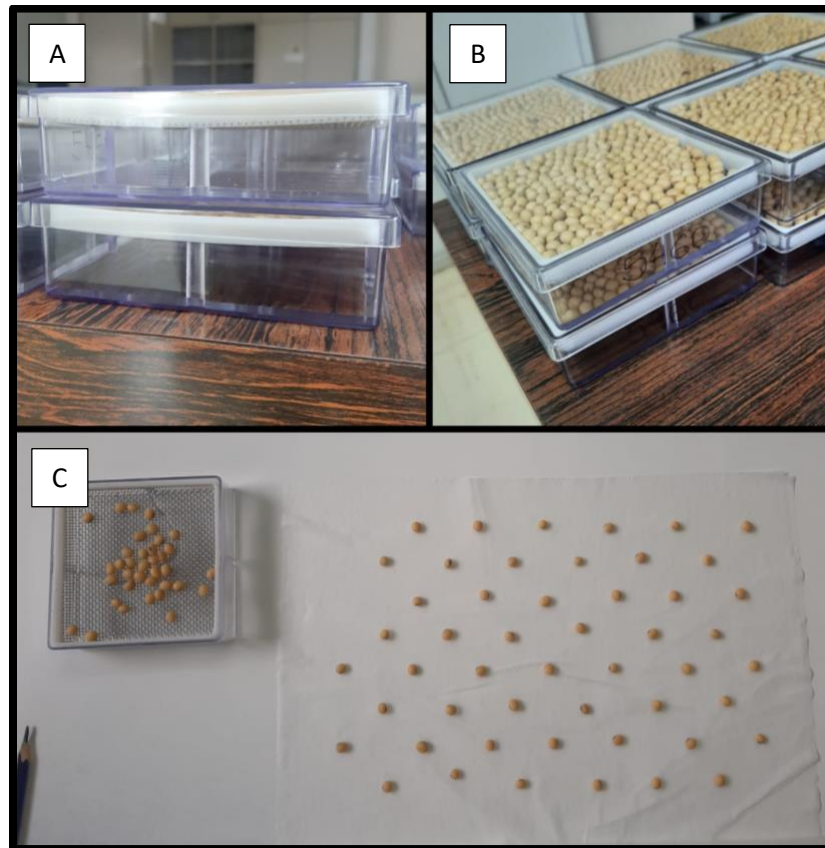
3.1.10 Teste de envelhecimento acelerado

Para este teste, são colocadas sementes de soja de maneira uniforme sobre a tela suspensa, sem que elas se sobreponham, e 40 mL de água são acrescentados na caixa tipo gerbox, em seguida, as caixas de gerbox são levadas para a estufa para germinação com termoperíodo e fotoperíodo por 48 horas a uma temperatura de 41°C (Figura 18).

Após esse período, as sementes são submetidas ao teste de germinação, semeadas sobre o substrato papel, feitos os rolos e levados ao germinador por 5 a 8 dias a uma temperatura de 25 °C, ao fim do teste, é realizada a contagem normal do teste de germinação, de plântulas normais, anormais, mortas e duras.

O vigor representa um importante parâmetro para a caracterização fisiológica das sementes e com isso se torna possível distinguir lotes de alto e baixo vigor. O resultado do teste é expresso em porcentagem de sementes normais, anormais mortas e duras, assim como no teste de germinação.

Figura 18 – Teste de envelhecimento acelerado em soja a) Gerbox com a quantidade necessária de água, b) Sementes de soja distribuídas sobre a tela suspensa, c) Sementes submetidas ao teste de germinação



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.1.11 Análise de vigor

Para a avaliação do vigor são feitos o teste de envelhecimento acelerado e o teste de tetrazólio. Os testes e a interpretação dos resultados são feitos seguindo a metodologia indicada para tal.

Para análise de vigor por envelhecimento acelerado, é utilizada a publicação “Vigor de sementes: conceitos e testes”, para as culturas: capim colômbio, feijão,

girassol, milho, soja, sorgo e trigo. Para o teste de tetrazólio é utilizada a RAS (Brasil, 2009), capítulo 6, e a publicação “O teste de tetrazólio em sementes de soja”.

3.1.12 Emissão dos resultados de análise

Os resultados das análises realizadas pelo Laboratório Oficial de Análise de Sementes da Embrapa Trigo são emitidos sob 3 formas:

Boletim de análise de sementes (BAS): emitido para amostras que se enquadram no sistema nacional de produção de sementes das classes genética, básica, certificada (C1 e C2) e não certificada (S1 e S2).

Informação de resultados de análise interna (IR): feita para informar resultados de análise para amostras que não se enquadram no BAS, apenas para uso interno.

Boletim de análise de sementes oficial (BASO): documento que expressa os resultados de análise de uma amostra oficial emitido por Laboratório Oficial de Análise de Sementes do MAPA ou por ele credenciado, os resultados obtidos têm finalidade oficial para o serviço de fiscalização. São emitidos com baixa frequência pelo Laso.

Planilha de resultados: são emitidas para informar os resultados de amostras de pesquisa.

3.2 ATIVIDADES A CAMPO

3.2.1 Melhoramento para a produção de sementes genéticas

O trigo é de grande importância para a alimentação da população mundial, como o Brasil ainda não é autossuficiente na produção deste cereal é realizada a importação do mesmo. Para a diminuição de gastos com a importação, se faz necessária a expansão da área cultivada de trigo, com redução do custo de produção e com o uso de cultivares com características desejadas pelo mercado. Com este objetivo surge o melhoramento genético de trigo no Brasil, que busca desenvolver cultivares que atendam estes requisitos, e além destes outros, como, adaptação aos diferentes tipos de solos e regiões, resistência as principais doenças, e melhora no potencial produtivo.

O melhorista trabalha com centenas de linhagens experimentais, e ocasionalmente uma destas linhagens reunirá a combinação de caracteres que irá torná-la superior as cultivares comerciais em cultivo, justificando a produção de sementes para posterior comercialização.

O processo de produção de semente genética de trigo adotado pela Embrapa Trigo, em uma pequena escala de adaptações também se aplica para soja, cevada e triticale (EICHELBERGER, 2011).

O desenvolvimento de novas cultivares inicia na escolha dos genótipos, com esta etapa é possível se obter o sucesso na hibridação artificial. Os genótipos podem advir de intercruzamentos, cultivares antigas que tenham a característica desejada, genótipos com genes específicos, intercruzamentos ou de linhagens, onde se faz a hibridação artificial e são selecionadas as melhores plantas oriundas deste cruzamento.

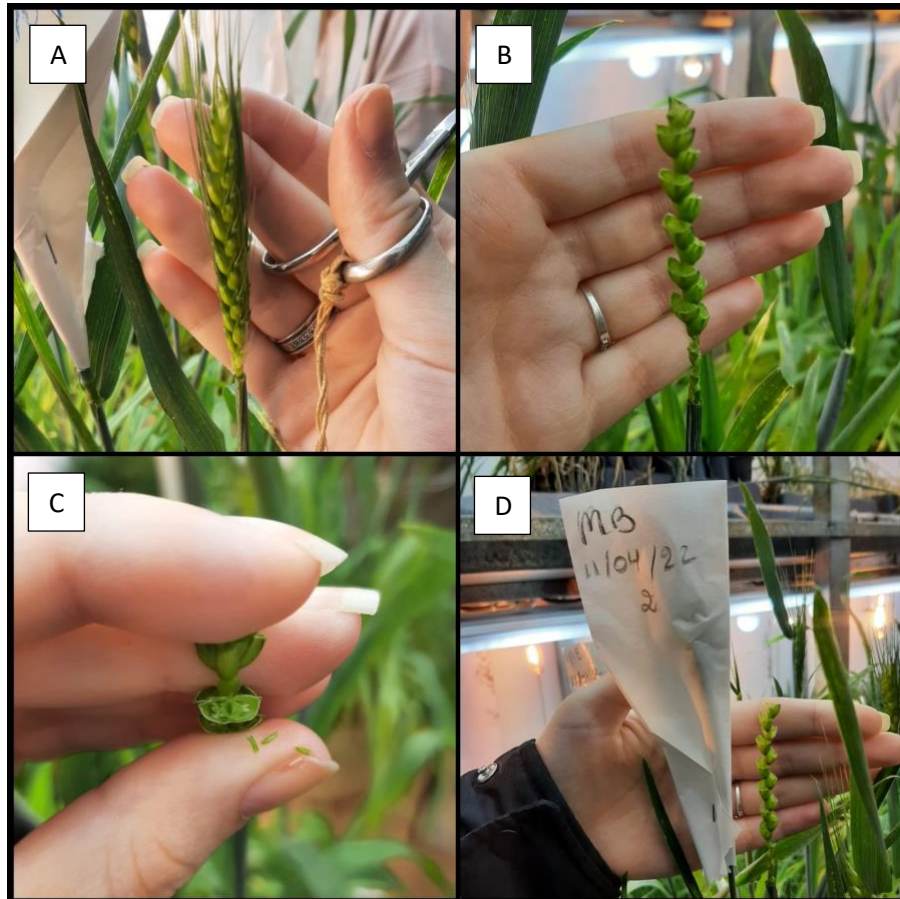
Após a seleção dos genitores ocorre o cruzamento, no caso do trigo, os cruzamentos artificiais são utilizados como o principal método de melhoramento, e este pode ser resumido em duas etapas, a emasculação e a polinização, ambos feitos em ambiente controlado.

A emasculação é realizada antes do amadurecimento do pólen do trigo, evitando assim que ocorra a autofecundação em trigo, pois o trigo é uma planta autógama, esse processo consiste na retirada da parte masculina da flor, ou seja, as anteras, sendo que o ovário, a parte feminina, é conservado.

A técnica da emasculação segue uma sequência, primeiro é feita a escolha da espiga, esta deve estar no estágio fenológico de emborrachamento, em seguida é feita a eliminação das espiguetas novas e estéreis, é retirada a flor central e as espiguetas são cortadas no sentido horizontal (dois terços), após isso são retiradas de cada flor as três anteras deixando a pálea, a lema, a gluma e o ovário sem danificar e, por fim, a espiga é ensacada para evitar a fecundação cruzada indesejada (Figura 19).

A etapa da polinização consiste na fecundação de uma flor emasculada pelo pólen de uma espiga doadora, a planta polinizadora será o progenitor masculino, e esse processo originará a nova semente (geração F1), a semente F1 produzirá uma planta F1 que produzirá sementes F2. A polinização deve ser realizada cinco dias após a emasculação, em local com ausência de vento e temperatura amenas.

Figura 19 – Emasculação em plantas de trigo a) Escolha da espiga, b) Eliminação das espiguetas novas e estéreis, é retirada a flor central e as espiguetas são cortadas no sentido horizontal, c) Retiradas de cada flor as três anteras deixando a pálea, a lema, a gluma e o ovário, d) A espiga é ensacada



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

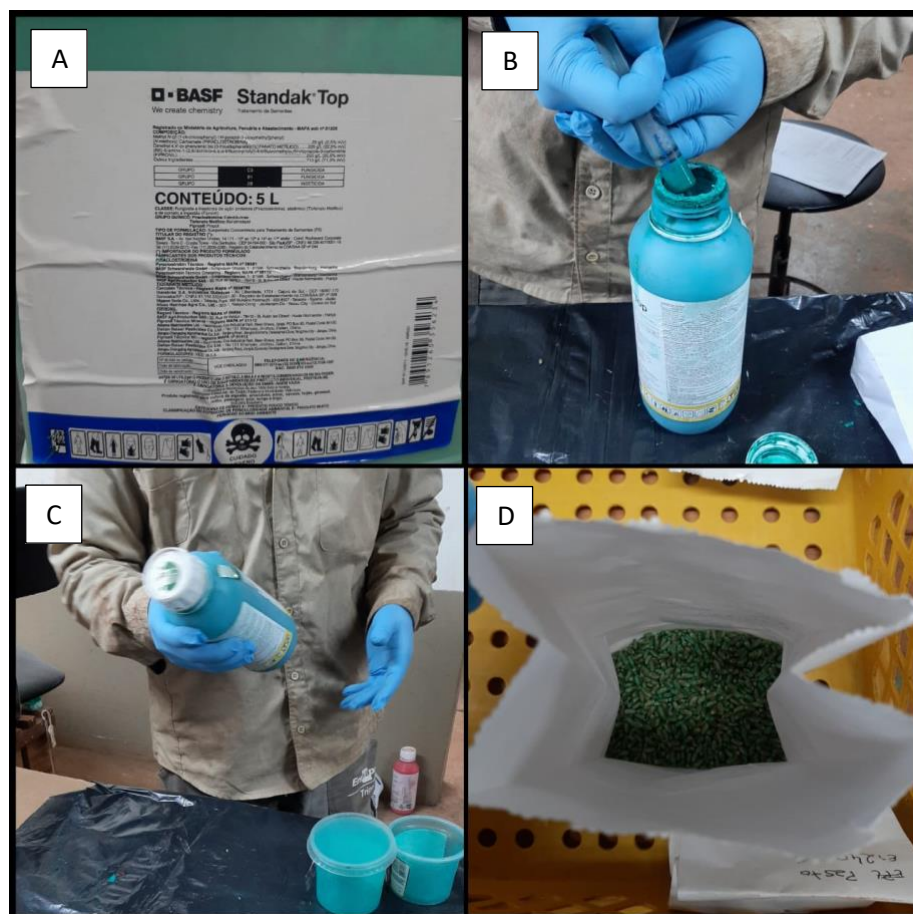
3.2.2 Produção de semente genética

Após a etapa de cruzamento, autofecundação e seleção das melhores linhagens para a sequência do programa de melhoramento, na geração F7, as sementes passam para o setor de multiplicação de sementes, que é o setor ligado ao Laso, responsável por realizar as atividades a campo.

Para manter a qualidade e o padrão das sementes, os membros desse setor realizam tarefas como a definição de área para semeadura; tratamento de sementes com Standak Top, um fungicida e inseticida de ação protetora (piraclostrobina), sistêmico (tiofanato metílico) e de contato e ingestão (fipronil) (Figura 20); preparo do campo (marcação de parcelas, estacas, mapa da área); aplicação de defensivos;

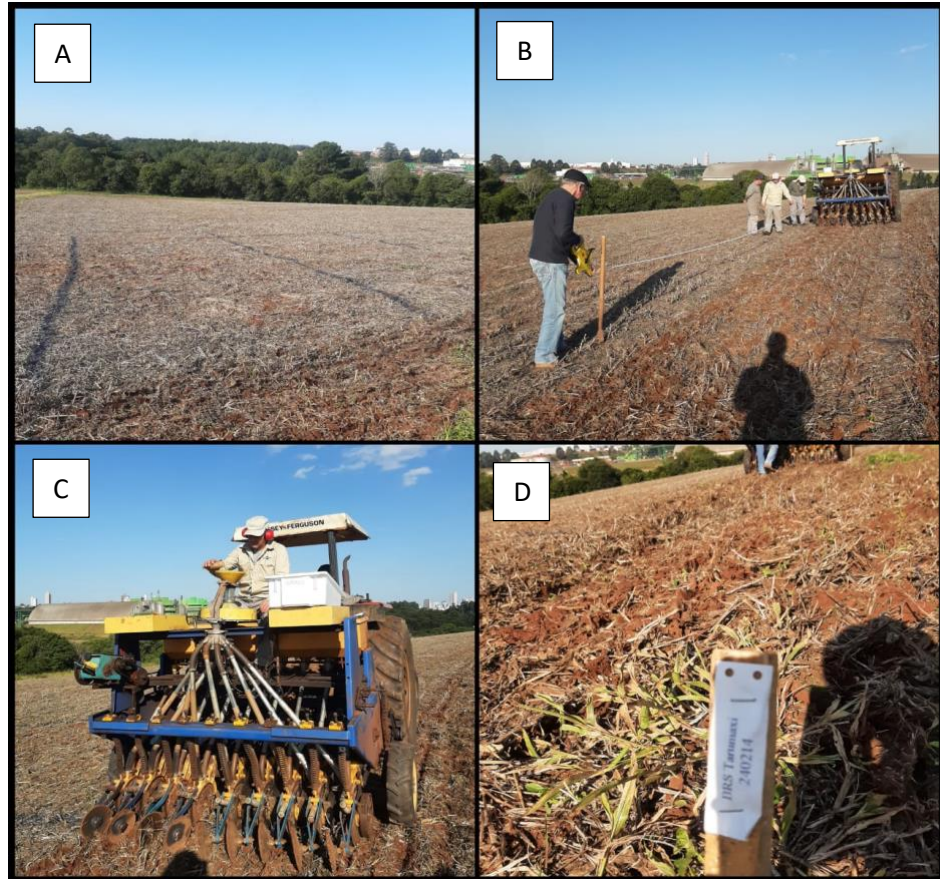
semeadura, que é feita com máquina especial e adequada para o semeadura de parcelas (Figura 21); elaboração de livros de campo; observações das parcelas; purificação ou “*roguing*”, que é uma prática obrigatória em campos de sementes, realizada para todas as classes de sementes, que consiste na eliminação por exemplo, de plantas atípicas, plantas de outras espécies e plantas silvestres nocivas. O “*roguing*” nos campos de produção de sementes deve ser feito em três fases de desenvolvimento, antes do início da floração, na floração e na época de maturação de vagens; esse setor também é responsável pela colheita das parcelas, e para isso, as sementes devem apresentar umidade entre 15 e 19% (Figura 22).

Figura 20 – Tratamento de sementes de trigo com fungicida e inseticida de ação protetora (piraclostrobina), sistêmico (tiofanato metílico) e de contato e ingestão (fipronil) a) Fungicida e inseticida utilizado, b) Aplicação do produto nas sementes, c) Agitação para distribuição uniforme do produto nas sementes, d) Sementes tratadas



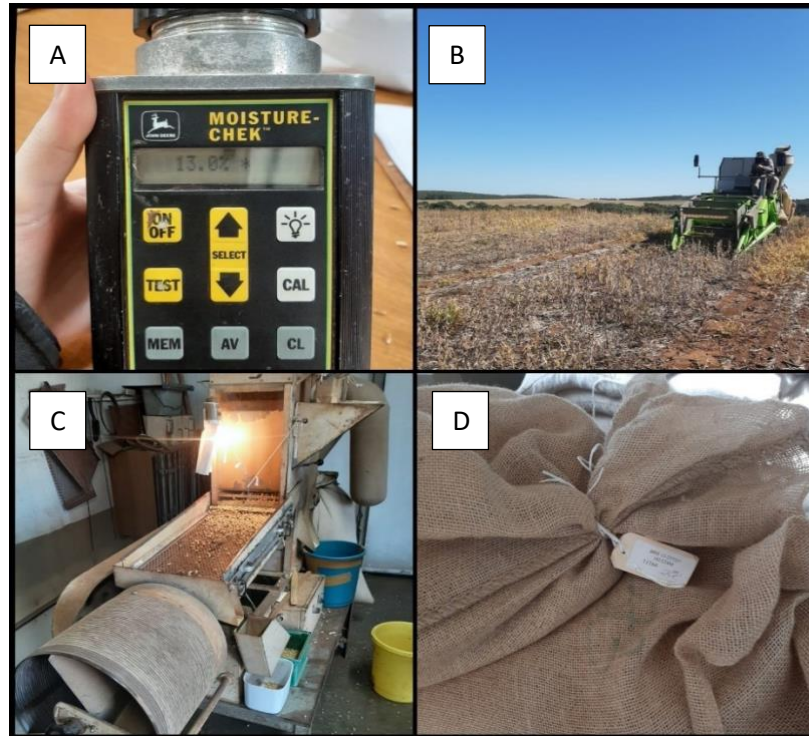
Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 21 – Semeadura de trigo em parcelas a) Demarcação da área para
semeadura, b) Medição da parcela semeada, c) Semeadora de parcelas, d)
Identificação de cada parcela semeada com estacas



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 22 – Colheita de soja e classificação das sementes a) Medidor de umidade de sementes, b) Colheita das plantas de soja, c) Classificação das sementes de soja, d) Identificação das sementes classificadas para posterior armazenagem



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.2.2.1 Ensaios preliminares de linhagens (EPL)

A produção de semente genética ocorre de maneira paralela aos ensaios de avaliação das linhagens em comparação com testemunhas, que são cultivares existentes no mercado. Enquanto as linhagens são avaliadas, a multiplicação aumenta a quantidade de sementes de cada uma (LINHARES; EICHELBERGER, 2005).

O processo de melhoramento genético é concluído com a fixação de uma linhagem homozigota, homogênea e estável, para isso ser atingido são feitas autofecundações da geração F1 até a geração F8, em F6 é feita uma seleção das melhores plantas, em F7 se dá início a multiplicação das sementes, em uma parcela de 1 linha por 1,2 metros, chamada de parcela pré-PO (pureza de origem), onde é possível retirar plantas diferentes do padrão do material e aumentar a quantidade de

sementes, em F8 é feita a multiplicação em uma parcela chamada de PO, composta por 6 linhas de 3 metros.

Após esse processo, a linhagem passa para o processo de avaliação, essa etapa avalia as linhagens em suas características, como produtividade e estresses bióticos e abióticos. Estes ensaios são classificados como EPL, um a cada ano ou ciclo reprodutivo, tem como objetivo eliminar as linhagens e selecionar as melhores, e são realizados nos campos da Embrapa Trigo.

Na fase de PO inicia o processo de produção de semente genética com a coleta de espigas que proporcionam 200 gramas de sementes de trigo da linhagem definida. Esta quantidade é semeada em parcelas de 9 linhas de 20 metros de comprimento, com objetivo de aumentar o número de sementes e eliminar plantas atípicas. Após todos os processos de purificação e a colheita das espigas, a parcela é colhida com a colhedora de parcelas e as sementes atendem à demanda de outros ensaios realizados pela Embrapa Trigo.

3.2.2.2 Ensaio preliminar em rede (EPR)

É um ensaio realizado com apoio de empresas privadas e públicas, que realiza testes de adaptação de cultivares em municípios ao entorno de Passo Fundo (RS), é feita uma avaliação mais rigorosa do desempenho agrônômico das linhagens de trigo, principalmente para o rendimento.

Nessa etapa são semeadas as 200 g de sementes colhidas nas PO para aumentar a disponibilidade de semente genética e atender os ensaios da unidade.

3.2.2.3 Ensaios de valor de cultivo e uso (VCU)

Este ensaio acontece durante 3 anos, é conhecido como VCU de 1º ano, VCU de 2º ano e VCU de 3º ano, segue as normas do Serviço Nacional de Registro de Cultivares - SNRC, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Mapa, além disso é exigido pelo Ministério da Agricultura para o lançamento de novas cultivares no mercado. Nessa fase as linhagens são testadas em regiões tritícolas no estado do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, para verificar a adaptação e

produtividade da linhagem em diferentes locais (CUNHA, Gilberto Rocca da *et al.*, 2015).

No primeiro ano os materiais promovidos do EPR chegam a esta fase, em média chegam 20 linhagens, de cada uma é semeado 1 kg de sementes em parcelas em cada VCU.

No segundo ano o ensaio é realizado com material oriundo do ensaio VCU de 1º ano, promovendo em torno de 10 linhagens, são semeados 2 kg do material em cada local do ensaio para maior disponibilidade de sementes e fornecimento das demandas de sementes para a experimentação.

No terceiro ano são semeados 10 kg de sementes de cada linhagem de cada VCU, e as sementes colhidas, no quarto ano, são repassadas ao setor da Embrapa Trigo chamado Transferência de Tecnologia, em Passo Fundo, para a produção de sementes genéticas em escala massal e após isso é disponibilizada aos produtores de sementes.

Os genótipos que apresentarem melhores características, como produtividade, resistência às principais doenças e qualidade industrial, serão indicados para registro, visando à produção e à comercialização de semente.

Atualmente para acelerar o processo de desenvolvimento de uma nova cultivar, só são colhidas espigas manualmente e destas feitas linhas e em seguida parcelas se houver conhecimento que o material apresenta alguma mistura genética.

É importante salientar que cultivares lançadas pela Embrapa que já estão no mercado, podem apresentar a necessidade de serem incluídas em testes para purificação ou “*roguing*”, para resolver problemas que tenham surgido relacionados a misturas genéticas, ou até mesmo para acompanhar o desempenho da cultivar ao longo dos anos.

3.2.3 Unidade de beneficiamento de sementes (UBS)

Após colhidas, as sementes passam para a etapa de beneficiamento, quando chegam, trazidas geralmente por caminhões, são despejadas na moega e é feita uma pré-limpeza para retirar materiais grosseiros. Em seguida, com o auxílio de um elevador, as sementes são armazenadas nos silos e se necessário, pode ser feita a secagem do material no próprio silo, mas isso somente quando são recebidas

sementes com teor de umidade acima de 13%. Estas devem ser secadas até atingir grau de umidade inferior, utilizando uma temperatura abaixo de 40 °C na massa de sementes a fim de evitar danos às mesmas (Figura 23).

As sementes permanecem armazenadas em torno de dois a três meses no silo. No caso de culturas de inverno, permanecem menos tempo devido ao fato de se deteriorarem mais facilmente, assim vão para o beneficiamento para realização do expurgo e em seguida são armazenadas.

Após isso as sementes por meio de elevadores e esteiras chegam à parte de beneficiamento, onde é feita uma limpeza, com uso de maquinário contendo as peneiras adequadas para a espécie. Em seguida, se dá início a classificação, com auxílio de uma mesa de gravidade, que tem por objetivo a separação dos materiais de diferentes densidades, sendo as menores densidades as sementes leves ou quebradas. Esta máquina tem regulagens de vibração, de inclinação e de entrada de ar.

As sementes passam por várias máquinas de diferentes funções, vindo a separá-las conforme tamanho para se obter uniformidade, qualidade das sementes e facilidade no manuseio para a semeadura. Logo após, seguem para etapa de embalagem, onde as selecionadas são guardadas em sacas de papel lacradas e as indesejadas vão para bags, podendo ser usadas na indústria de farinha, óleos ou rações (Figura 24).

Após todo esse processo, as sementes são encaminhadas ao Laso para realizar análise de pureza, determinação de outras sementes por número e o teste de germinação, e são armazenadas em uma câmara seca e vendidas aos produtores de sementes como semente genética (produtores associados ou autorizados pela Embrapa). De todo material que é comercializado é guardado uma contraprova na câmara fria da própria UBS (Figura 25), no caso do trigo, as sementes permanecem por 6 meses até a validade do teste de germinação, após a validade é feita uma reanálise, e com isso pode ficar armazenada por mais 4 meses.

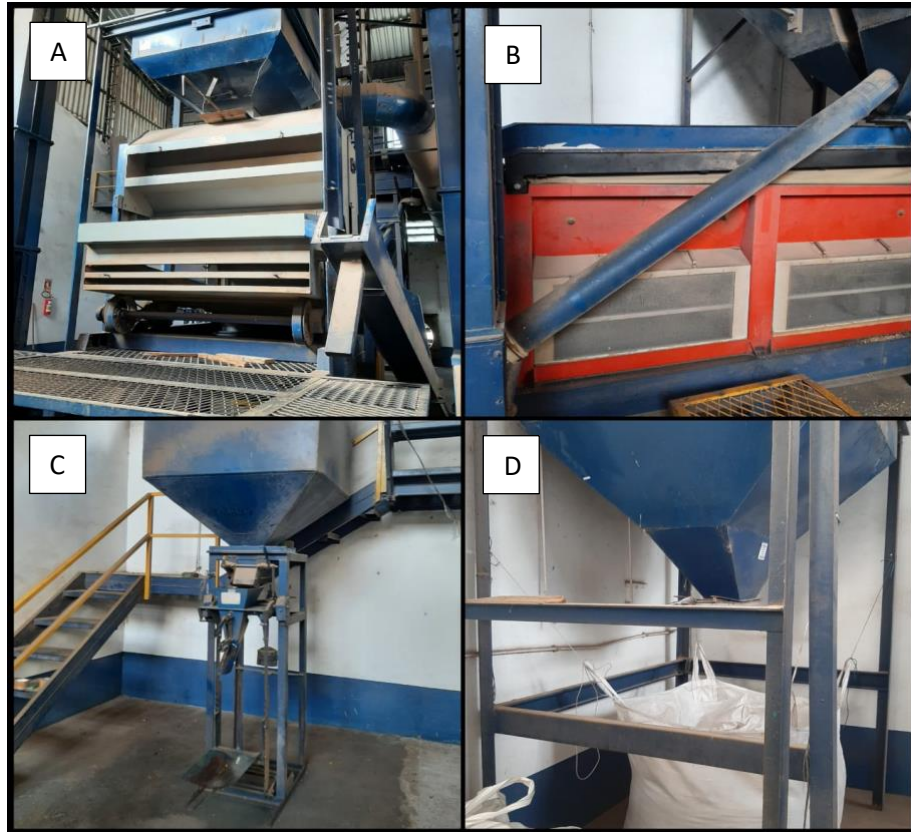
Quanto a documentação, toda cultivar acompanha laudo do Laso com os resultados das análises, classificação dos campos de produção (descrição do local, coordenadas geográficas), vistorias que foram feitas (e se houve ocorrência de mistura genética), informativo com o manejo realizado na área (preparo do solo, cultura antecedente, agrotóxicos utilizados), e a caracterização da cultivar. As sementes comercializadas acompanham apenas a cópia da documentação oficial.

Figura 23 – Etapas de recebimento das sementes na UBS a) Moega, b) Elevadores responsáveis por levar as sementes até os silos, c) Silos de armazenagem, d) Esteiras que transportam as sementes até a etapa de beneficiamento



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 24 – Classificação das sementes a) Máquina para limpeza das sementes, b) Mesa de gravidade, c) Pesagem e embalagem, d) Descarte das sementes indesejadas



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 25 – Embalagem e armazenamento das sementes classificadas a) Contraprova armazenada na câmara fria, b) Informações contidas na saca, c) Sementes armazenadas prontas para a comercialização



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.3 LABORATÓRIO OFICIAL DE ANÁLISE DE SEMENTES (LASO) DO CAV-UDESC

A segunda parte do estágio obrigatório foi realizada no Laboratório Oficial de Análise de Sementes (Laso) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (Udesc), na cidade de Lages, estado de Santa Catarina, de 04/07/2022 à 11/07/2022, totalizando 48 horas que somadas às 456 horas de estágio realizadas na Embrapa Trigo atinge a carga horária de 504 horas.

Assim como no Laso da Embrapa Trigo, o Laso do CAV-Udesc realiza atividades como o teste de germinação, testes de vigor (envelhecimento acelerado e tetrazólio), análise de pureza, determinação de outras sementes por número, peso de mil sementes (PMS), além destes testes foi possível acompanhar a realização do teste de hipoclorito de sódio, determinação do grau de umidade e teste de germinação em areia.

O Laso do CAV-Udesc realiza análises de amostras coletadas por órgãos de fiscalização, amostras de produtores e de empresas, além disso promove ações que levam conhecimento ao pequeno e grande produtor e a outras instituições de ensino.

Para a realização desse estágio, também se fez necessária a assinatura de um termo de confidencialidade, com objetivo de manter determinadas informações em sigilo.

3.3.1 Teste de hipoclorito de sódio

O teste de hipoclorito é utilizado em sementes de soja para determinar rapidamente o percentual de dano mecânico (ruptura de tegumento) ocasionado durante a operação de colheita e trilha.

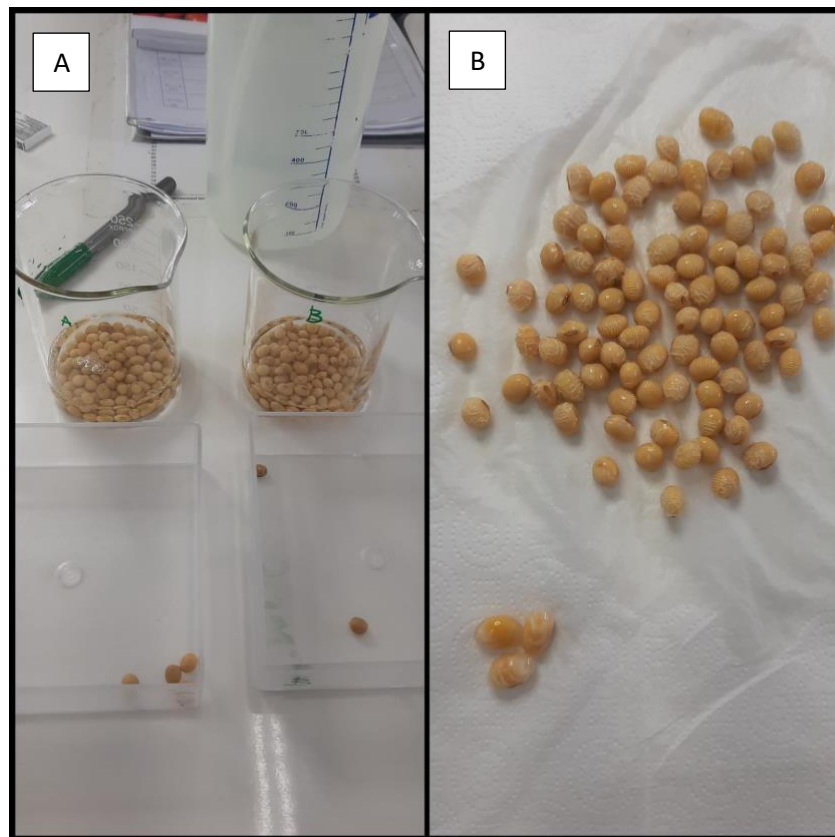
Para esse teste são separadas duas repetições de 100 sementes da fração de sementes puras, as sementes com dano mecânico aparente são colocadas em um gerbox, as sementes sem dano mecânico aparente são colocadas em um becker e imergidas em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% diluído até uma concentração de 1%, e nesta solução as sementes devem permanecer por dez minutos.

Após o tempo de espera, a solução com as sementes é despejada sobre uma peneira, e logo em seguida essas sementes são colocadas sobre um papel toalha para serem avaliadas.

São contadas e separadas a quantidade de semente que embeberam, ou seja, aquelas que possuem dano mecânico, para se analisar o percentual de dano.

O resultado do teste é expresso em porcentagem. Segundo KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; DA COSTA, (2004), se o percentual de sementes embebidas for superior a 10%, a semente está muito danificada.

Figura 26 – Realização do teste de hipoclorito de sódio em soja a) Separação das sementes com dano mecânico não aparente e das sementes com dano mecânico aparente, b) Sementes que apresentaram dano mecânico após a imersão na solução



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.3.2 Determinação do grau de umidade pelo método de estufa

O grau de umidade de uma amostra é representado pela perda de peso quando esta é submetida aos métodos descritos na RAS (BRASIL, 2009). É expresso em porcentagem do peso da amostra original.

Primeiramente é pesado o recipiente e em seguida é pesado o recipiente mais as sementes, os pesos são anotados. A RAS (BRASIL,2009) estabelece alguns métodos oficiais para uso nos laboratórios de análise de sementes, o Laso utiliza o método de estufa a 105°C.

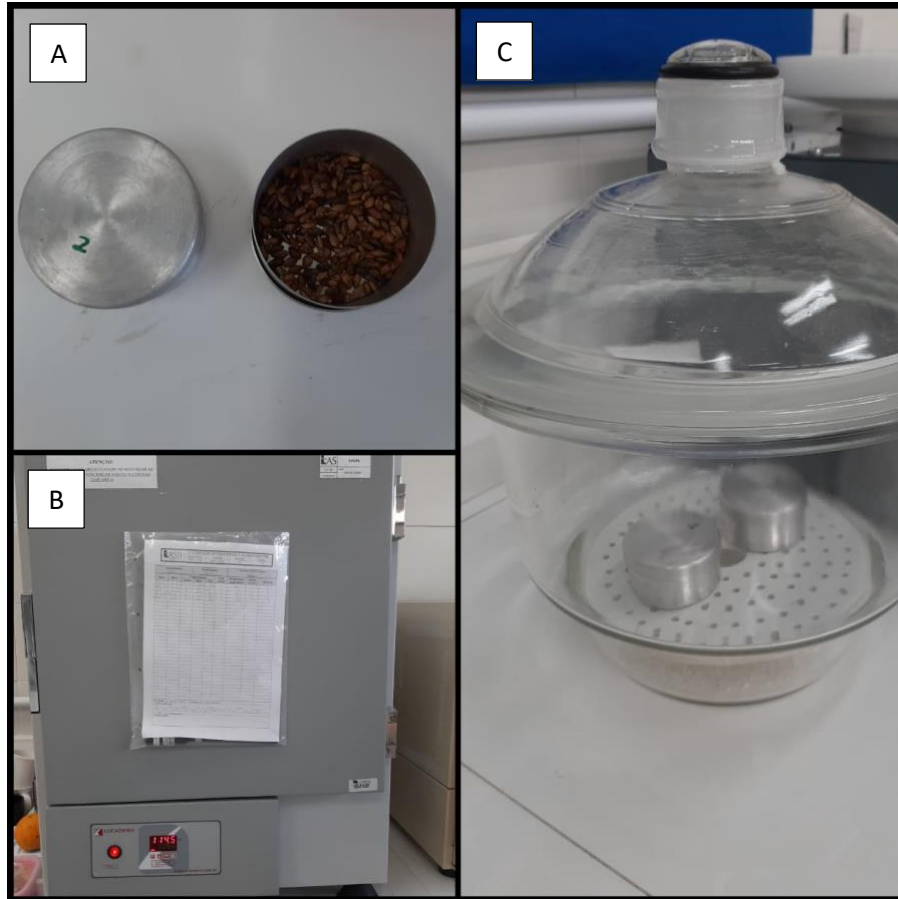
Os recipientes são colocados na estufa a 105°C, sobre as respectivas tampas e são mantidos na estufa durante 24 horas, após o período de secagem as amostras são retiradas da estufa e os recipientes são tampados rapidamente e colocados em dessecador com sílica gel até esfriar e em seguida é pesado. A porcentagem de umidade é calculada na base do peso úmido, aplicando-se a fórmula:

$$\% \text{ de umidade (U)} = \frac{100 (P-p)}{P-t}$$

Onde: P = peso inicial (peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente úmida); p = peso final (peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente seca); t = tara (peso do recipiente com sua tampa).

A pesagem deve ser em gramas com três casas decimais. O resultado final é obtido através da média aritmética das porcentagens de cada uma das repetições retiradas da amostra de trabalho, deve ser expresso em porcentagem e com uma casa decimal.

Figura 27 – Determinação do grau de umidade em espécie florestal a) Preparação da amostra para ser colocada na estufa, b) Estufa utilizada, c) Dessecador com sílica gel



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

3.3.3 Teste de germinação em areia

Realizado com o mesmo princípio do teste de germinação em papel “germitest” citado anteriormente, o teste de germinação em areia é usado alternativamente quando as plântulas apresentarem sintomas fitotóxicos ou quando recomendado. A areia tem como principal vantagem a eliminação de fungos do tegumento, permitindo um melhor desenvolvimento das plântulas e consequentemente a avaliação.

A areia utilizada para este teste é esterilizada, e para a semeadura, é colocada em bandejas e umedecida. É utilizado o método entre areia, ou seja, as sementes são contadas e despejadas sobre a areia, após isso são cobertas e levadas ao germinador seguindo as recomendações da espécie, no caso da soja que foi a espécie analisada, são 25 °C por 5 a 8 dias.

A avaliação das plântulas normais, anormais, sementes mortas e dormentes, é feita de acordo com o capítulo 5 da RAS (Brasil, 2009).

Figura 28 – Plântulas de soja aptas para a avaliação



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

4 CONCLUSÕES

A realização do estágio curricular foi de grande importância tanto para o crescimento profissional quanto pessoal, foi possível vivenciar a prática do que foi visto durante a graduação, e acompanhar como é o dia a dia dentro de uma empresa pública, as atividades realizadas e os desafios encontrados.

Tendo em vista que o foco da realização do estágio foi em Laboratórios Oficiais de Análise de Sementes, pode-se vivenciar a rotina laboratorial, obtendo assim o conhecimento necessário para executar os testes realizados tal como para interpretar os resultados, e vivenciar a importância do uso de sementes de qualidade para a implantação e os bons resultados de uma lavoura.

Com a oportunidade de conhecer o funcionamento de diversos setores da Embrapa Trigo, foi possível aprimorar os conhecimentos nas áreas de melhoramento genético e de desenvolvimento de novas cultivares, compreendendo os processos envolvidos para a manutenção da pureza varietal e a produção de sementes, principal passo para implantação de uma lavoura de qualidade, sadia e produtiva.

O estágio curricular obrigatório apresenta como pontos positivos a inserção dos acadêmicos no mercado de trabalho e a ampliação da visão sobre o funcionamento do mesmo, além de ser fundamental para a obtenção de novos conhecimentos e permitir colocar em prática aqueles já adquiridos durante a graduação.

Como sugestão para melhorias dos setores acompanhados na Embrapa Trigo, a principal a ser citada é a melhoria na comunicação entre os setores para dessa forma entender o porquê de cada atividade realizada. Outro ponto a ser mencionado é a otimização do tempo, organizando as atividades de tal forma que se torne possível conhecer melhor os outros setores da empresa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.

CUNHA, Gilberto Rocca da *et al.* **Regiões para trigo no Brasil: ensaios de VCU, zoneamento agrícola e época de semeadura**. Passo Fundo: EMBRAPA, 2015.

LINHARES, Aroldo G.; EICHELBERGER, Luiz. **Procedimentos adotados na produção de semente genética de cereais de inverno na Embrapa Trigo**. Passo Fundo: EMBRAPA, 2005.

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

FRANÇA NETO, J.B; KRZYZANOWSKI, F.C; COSTA, N.T. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1998.

EICHELBERGER, Luiz. **Produção de sementes de trigo**. Passo Fundo: EMBRAPA, 2011.

BONATO, Emídio Rizzo. **Cor do hilo em sementes de soja**. Passo fundo: EMBRAPA, 2003.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; DA COSTA, N. P. **Circular Técnica: Teste do Hipoclorito de Sódio para Semente de Soja**. Londrina: EMBRAPA, 2004.