

Article

# Efeito dos Óleos de Aroeira Pimenta e Erva de Santa Maria em Sementes de Milho Armazenadas à Temperatura Ambiente

Ana Cristina Siewert Garofolo<sup>1</sup> , Lília Aparecida Salgado de Morais<sup>2</sup> , Madelon Rodrigues Sá Braz<sup>3</sup> ,  
Luiz Fernando de Sousa Antunes<sup>4</sup> 

<sup>1</sup> Doutorado em Engenharia Agrícola Agrobiologia (Embrapa). ORCID: 0000-0002-4207-8178. E-mail: ana.garofolo@embrapa.br

<sup>2</sup> Pesquisadora Agrobiologia Seropédica (Embrapa). ORCID: 0000-0002-5382-6485. E-mail: lilia.salgado@embrapa.br

<sup>3</sup> Doutora na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). ORCID: 0000-0002-2079-6806. E-mail: agromccc@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Doutor em Fitotecnia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). ORCID: 0000-0001-8315-4213. E-mail: agroalves@gmail.com

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito dos óleos de aroeira pimenta (*Schinus terebinthifolius*) e erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*) em sementes de milho armazenadas à temperatura ambiente por um período de 12 meses. Sementes em estudo foram submetidas a testes de germinação, índice de velocidade de germinação bem como condutividade elétrica, teor de potássio e açúcares realizados no líquido de sementes deixadas em imersão. Realizou-se avaliação da atividade específica da peroxidase e peroxidação de lipídeos nas sementes após 12 meses de armazenamento. Menores índices percentuais de germinação foram observados para o tratamento da Erva de Santa Maria na concentração 4ul/g. O teste de condutividade elétrica realizado aos 6 meses demonstrou menores valores para os tratamentos com 1ul/g e 3ul/g para este óleo, sendo que aos 12 meses de armazenamento não foi possível constatar diferenças estatísticas entre os tratamentos. Concentração de 1 µl/g da aroeira pimenta resultou em maior atividade da enzima peroxidase aos 12 meses de armazenamento, diferindo da testemunha e evidenciando um possível efeito do óleo no sequestro de espécies reativas ao oxigênio. Todos os tratamentos realizados com óleo de Erva de Santa Maria tiveram sua atividade enzimática diminuída, e um aumento, ainda que não significativo, da peroxidação, e diminuição da capacidade germinativa, evidenciando morte das sementes.

**Palavras-chave:** condutividade elétrica; peroxidases; peroxidação de lipídeos; índice de velocidade de germinação.

## ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the effect of Aroeira Pimenta (*Schinus terebinthifolius*) and Erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*) oils on corn seeds stored at room temperature for a period of 12 months. Seeds under study were submitted to germination tests, germination speed index as well as electrical conductivity, potassium and sugar content performed in the liquid of seeds left in immersion. The specific activity of peroxidase and lipid peroxidation in the seeds was evaluated after 12 months of storage. Lower germination percentages were observed for the treatment of Santa Maria herb in the concentration 4ul/g. The electrical conductivity test performed at 6 months showed lower values for treatments with 1ul/g and 3ul/g for this oil, and at 12 months of storage it was not possible to observe statistical differences between treatments. Concentration of 1 µl/g of pepper resulted in higher activity of the enzyme peroxidase at 12 months of storage, differing from the control and evidencing a possible effect of the oil on the sequestration of reactive oxygen species. All treatments performed with Santa Maria oil had their enzymatic activity reduced, and an increase, although not significant, in peroxidation, and a decrease in germination capacity, evidencing seed death.

**Keywords:** electric conductivity; peroxidases; lipid peroxidation; germination speed index.



Submissão: 02/07/2023



Aceite: 17/08/2023



Publicação: 27/10/2023



## Introdução

Para se obter produções de milho com alta produtividade em campo, é necessário o uso de sementes de boa qualidade, sendo este requisito fundamental para o sucesso no estabelecimento dos cultivos.

A garantia da qualidade das sementes é determinada pela interação entre atributos fisiológicos, sanitários, genéticos e físicos, os quais interferem diretamente no potencial de desempenho em campo e durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 1999). Neste contexto, um armazenamento bem conduzido é necessário para que os processos de deterioração e descarte de sementes sejam minimizados. Cerca de 30% das sementes são perdidas durante o período de armazenamento devido ao ataque de insetos, roedores e micro-organismos. Assim sendo, especial atenção ao armazenamento das sementes deve ser dada, com o objetivo de preservar sua qualidade (SILVA NETA, 2021).

Condições ideais para a conservação das sementes são aquelas em que as atividades metabólicas são reduzidas ao mínimo, mantendo-se baixa a umidade relativa e temperatura no ambiente de armazenamento e ausência de patógenos e insetos. Assim sendo, o armazenamento de sementes de milho em baixas temperaturas ou embalagem hermética são adequadas para manter a qualidade fisiológica das sementes (CAPILHEIRA *et al.*, 2016). Em oposição, o armazenamento de sementes de milho em embalagem de papel proporciona menor potencial de armazenamento, visto que sua qualidade fica comprometida. Considerando o exposto, o objetivo principal dos cuidados com a conservação das sementes deve ser a manutenção da qualidade desses insumos durante todo o tempo em que ficarão armazenados. Todas as práticas agropecuárias a serem utilizadas nesse processo deverão ajudar a retardar a deterioração, trazendo longevidade até o plantio da safra seguinte (FREITAS, 2018).

Os mecanismos envolvidos na deterioração das sementes ainda são pouco conhecidos. Delouche e Baskin (1973) sugerem uma sequência de mudanças durante a deterioração, a qual se inicia com a desestruturação do sistema de membranas como consequência do ataque aos seus constituintes químicos pelos radicais livres (JOSÉ *et al.*, 2010), passando por etapas onde ocorrem a redução do potencial de armazenamento, o decréscimo na velocidade de germinação e na emergência de plântulas e o aumento da ocorrência das plântulas anormais, sendo que neste processo a perda da germinação é o último acontecimento que precede a morte das sementes. O processo de deterioração afeta o metabolismo e conseqüentemente todo o aparato enzimático celular. Deflagra-se um processo irreversível, onde alterações no sistema redox das células vegetais podem desencadear a produção de compostos como peróxido de hidrogênio, levando à peroxidação lipídica. A peroxidase é uma importante enzima das plantas estando envolvida em diversas reações tais como: ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido 3-indolacético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da elongação de células e outras (CAMPOS; SILVEIRA, 2003).

Os produtos da peroxidação lipídica são altamente reativos e capazes de reagir com biomoléculas como DNA e proteínas, danificando-os irreversivelmente e causando danos às funções da membrana celular. Vários produtos colaterais que agravam estes danos são produzidos pela peroxidação lipídica, incluindo o malondialdeído (MDA), o qual é conhecido como um marcador molecular para designar esta oxidação lipídica em células vegetais sob diferentes estresses abióticos, como a salinidade (DAVEY, 2005). Importante observar que eventos deteriorativos não ocorrem isoladamente; assim sendo, os danos às membranas mitocondriais têm efeito direto na respiração, os danos nas membranas do retículo endoplasmático e complexo de Golgi tem maior impacto sobre a síntese de proteínas e enzimas (BRACINNI *et al.*, 2001), afetando o processo germinativo.



Atualmente, têm crescido o interesse por substâncias que apresentem menor risco à saúde humana e ao ambiente, além da demanda crescente por produtos alimentícios saudáveis e isentos de resíduos de agrotóxicos. Muitas plantas apresentam atividade inseticida, devendo ser estudadas e introduzidas, quando possível, nas propriedades agrícolas como forma alternativa de controle de pragas. Os chamados inseticidas botânicos são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas (KIM *et al.*, 2003), que compõem a própria defesa química contra os insetos herbívoros. Os princípios ativos inseticidas podem derivar de toda a planta ou partes dela, podem ser o próprio material vegetal, normalmente, moído até ser reduzido a pó, ou produtos derivados por extração aquosa ou com solventes orgânicos (MENEZES, 2005). Entre estas substâncias, destacam-se os óleos.

Os óleos essenciais são substâncias constituídas por terpenos, uma grande classe e estruturalmente diversa de produtos naturais derivados do isopreno. Entre as diversas funções exercidas pelos terpenos, destacam-se a defesa vegetal contra insetos, podendo ser usados como repelentes, prevenindo ou diminuindo o contato planta-inseto e, a transmissão de doença viral. O efeito repelente dos óleos essenciais é uma das características mais significativas no controle de pragas de grãos armazenados, visto que a infestação será menor quanto maior for a repelência ao óleo, pelo fato de favorecer a diminuição da postura e o número de eclosões dos insetos (COTTINHO *et al.*, 2006). Entretanto, deve-se ter cuidado ao utilizar óleos essenciais ou seus constituintes, pois aqueles que apresentam alta eficácia podem ser também os mais fitotóxicos (ISMAN, 2000). Estes óleos podem retardar o desenvolvimento e diminuir a produtividade, ou mesmo levar o vegetal à morte. O aparecimento dos efeitos fitotóxicos depende da forma como as substâncias são aplicadas e da dose empregada.

A aroeira pimenta ou aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolios*) apresenta em sua composição uma variedade de substâncias bioativas, tais como: terebinthona, o ácido hidroximasticadienóico, o ácido terebinthifólico e o ácido ursólico. Além destes compostos, a espécie possui, entre outros constituintes, taninos, flavonóides e óleos essenciais. Estudos sobre os metabólitos sintetizados pela aroeira mostram que a planta possui alcalóides e óleos essenciais, compostos conhecidos por serem biologicamente ativos. Essas substâncias encontradas na aroeira atuam como inibidores da germinação, na proteção contra perda de água e aumento da temperatura, na proteção contra predadores e na atração de polinizadores (SANTOS *et al.*, 2007; LIPINSKI *et al.*, 2012).

O óleo essencial da aroeira pimenta também atua frente as cepas bacterianas como *Bacillus subtilis*, *Shigella dysenteriae* e *Staphylococcus aureus*. Além disso, quando os ácaros *Tetranychus urticae* foram expostos ao vapor contendo óleo essencial da aroeira durante 24 horas em uma câmara de fumigação, mostrou-se ter uma ação acaricida (MARTINEZ *et al.*, 2000; SILVESTRE *et al.*, 2007). O efeito fungicida do óleo essencial da aroeira, mostrou ser efetivo contra as espécies de fungos como: *Alternaria spp.*, *Fusariums pp.*, *Colletotricums pp.*, *Botrytis spp.* e *Candidaalbicans* (SANTOS *et al.*, 2007). A ação antifúngica de extratos de folhas de *Schinus terebinthifolios* também mostra ser eficaz quando usadas para espécies fúngicas de importância médica, como *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans* e *Sporothrix schenckii* (BRAGA *et al.*, 2007).

A erva de Santa Maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), é uma espécie vegetal promissora para utilização em sistemas de manejo fitossanitário de pragas, uma vez que possui atividade repelente e inseticida sobre diversas famílias de insetos (PROCÓPIO *et al.*, 2003; TAVARES *et al.*, 2005). Além disso, o monoterpene ascaridol, que compõe 92% do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L, pode ter apresentado efeito tóxico sobre as mitocôndrias, por inibir a cadeia de transporte de elétrons (MONZOTE *et al.*, 2009).

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito fisiológico dos óleos de Aroeira Pimenta e Erva de Santa Maria em sementes de milho armazenadas à temperatura ambiente por um período de 12 meses.



## Materiais e métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Sementes e Produtos Naturais (LSPN) da Embrapa Agrobiologia, localizada em Seropédica, Rio de Janeiro, no período de abril de 2020 a março de 2021.

Foram utilizadas sementes de milho da variedade eldorado com 99,3% de germinabilidade, 11,4cm de comprimento de raiz, condutibilidade elétrica de  $10,8 \mu S cm^{-1} g^{-1}$  e pH medido líquido de imersão das sementes do teste de condutividade em  $5,2 \mu Scm^{-1}g^{-1}$ .

Os tratamentos foram constituídos por óleos essenciais de Aroeira Pimenta (*Schinus terebinthifolius*) extraída de frutos e extrato oleoso de Erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*), adquiridos junto a fornecedores comerciais. O óleo foi aplicado às sementes utilizando-se um frasco de vidro e agitando-se o mesmo com o óleo por cerca de 2 minutos, no intuito de homogeneizar o óleo e as sementes. Após este tempo as sementes foram armazenadas à temperatura ambiente utilizando sacos de papel kraft. Foram realizadas análises de parâmetros químicos e fisiológicos aos 6 meses e 12 meses de armazenamento (avaliadas de modo independente) e avaliação da atividade de peroxidase e peroxidação de lipídeos aos 12 meses de armazenamento, com o intuito de verificar sua atividade nas condições estressantes de armazenamento.

O teste de germinação foi realizado em triplicata com 20 sementes por repetição e leitura no 7º dia (BRASIL, 2009). O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi conduzido conforme Maguire (1962) contabilizando o número de sementes germinadas por dia, até o quarto dia.

A integridade do sistema de membranas das sementes frente aos diferentes tratamentos foi avaliada indiretamente pela medida da condutividade elétrica e lixiviação de potássio e açúcares.

O teste de condutividade elétrica foi realizado com modificações, onde 25 sementes do milho foram imersas em 75mL de água destilada por 24h (VASQUEZ *et al*, 2014). Após este período procedeu-se a leitura da condutividade do lixiviado utilizando um condutímetro Digimed, modelo DM – 31 e os resultados expressos em  $\mu Scm^{-1}g^{-1}$ .

Análises de potássio (K) foram realizadas por fotometria de chama no líquido de imersão das sementes do teste de condutividade. Análise de açúcares foi realizada no líquido de imersão. Foram pipetados 500 $\mu$ l do líquido de imersão das sementes do teste de condutividade e transferidos para tubo de ensaio o qual foi deixado em banho de gelo por cerca de 2-3 minutos. Na sequência foram adicionados 2,5mL do reagente de antrona, sendo na sequência os tubos levados ao Banho-Maria a 100°C por 10 minutos. Após este período os tubos foram resfriados em água corrente paralisando assim a reação. Procedeu-se a análise em espectrofotômetro com comprimento de 620nm e a concentração de açúcares foi calculada utilizando uma reta padrão de glicose.

Para avaliação da enzima peroxidase, sementes foram colocadas para iniciar o processo de germinação em papel germitest, umedecido com volume de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco. Os rolos foram mantidos em germinadores à temperatura de 28 °C com fotoperíodo de 12h de luz por 48 h. Após cada período, as sementes foram coletas, maceradas com nitrogênio líquido e levadas para super-freezer para posterior análise enzimática. A atividade da Peroxidase foi medida conforme a metodologia proposta por Worthington (2011) e adaptada para este estudo, utilizando amino-antipirina como substrato. 200 mg de amostra foi macerada com 10% PCPP e homogeneizada com 1500 $\mu$ l de tampão de extração constituído por 750  $\mu$ l de fosfato de potássio 200mM pH 7.8, 15  $\mu$ l EDTA 10mM, 150  $\mu$ l ácido ascórbico 200mM e 585  $\mu$ l água e agitada em vórtex por aproximadamente 1minuto. Após centrifugar por 20 minutos à 4°C a 15000G, o sobrenadante foi recolhido para análises da atividade enzimática. A atividade específica da enzima foi determinada conforme preconizado por Bradford (1976).

A peroxidação dos lipídeos foi avaliada em sementes após 24 meses de armazenamento por meio da determinação do índice de ácido tiobarbitúrico (ARAUJO, 1995). Foram moídas 200mg de sementes secas com



auxílio de nitrogênio líquido e homogeneizados com 2ml de TCA 0,1% (p/v). A mistura foi centrifugada por 15 minutos a 15000G. Após retirada do sobrenadante foram adicionados 1,5ml de TBA 0,5% (p/v) + TCA 20% (p/v) em 0,5ml do extrato, e incubada a 100°C por 30 minutos e na sequência colocada em banho de gelo por 1 minuto. Após nova centrifugação a 3000G durante 4 minutos procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 532 e 600nm obtendo-se, assim, os valores de absorvância líquida. Os resultados foram expressos em mmols de malonaldeído (MDA), após a conversão da absorvância (LEHNER *et al.* 2008) usando como coeficiente de extinção molar de 155mM/cm para quantificar o conteúdo.

Os experimentos foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, tanto para a coleta aos 6 meses quanto para os 12 meses. Todas as análises químicas foram feitas em duplicatas. Os dados foram submetidos à análise de variância e Teste de Tukey de comparação de médias mediante uso do Sisvar.

## Resultados e discussão

Resultados experimentais mostraram que sementes de milho quando tratadas com os óleos em estudo apresentaram melhor germinabilidade quando comparadas à testemunha nos 6 meses iniciais do armazenamento. Menores porcentuais germinativos foram observados para o tratamento com erva de Santa Maria na concentração 4µl/g. Destaca-se que o tratamento com 1 µl/g de óleo de aroeira pimenta foi o único estatisticamente diferente da testemunha neste período. Este fato ratifica o observado por Felipe *et al.* (2020) que demonstraram que a germinação do milho pode ser estimulada pelo óleo essencial de aroeira pimenta. Aos 12 meses de armazenamento os tratamentos não diferiram entre si no tocante a este parâmetro, sendo observada uma acentuada queda na germinação das sementes, evidenciando um processo deteriorativo proporcionado pelo armazenamento nas condições ambientais (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeito de diferentes dosagens de óleo essencial de Aroeira Pimenta e extrato oleoso de erva de Santa Maria na germinação e comprimento de raiz de milho variedade eldorado aos 6 e 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente.

| TRATAMENTO   | µl/g  | G (%)    |           | Raiz (cm) |          |          |
|--|---|----------|-----------|-----------|----------|----------|
|  |   | 6 meses  | 12 meses  | 6 meses   | 12 meses |          |
| Testemunha   | 0   | 68,3(b)  | 36,7 (a)  | 12,5 (a)  | 4,29 (a) |          |
|  | 1   | 95,0 (a) | 40,0 (a)  | 12,2 (a)  | 4,11 (a) |          |
|  | Aroeira pimenta<br>( <i>Schinus terebinthifolia</i> ) | 2        | 88,3 (ab) | 40,0 (a)  | 13,2 (a) | 4,85 (a) |
|  |   | 3        | 93,3(ab)  | 33,3 (a)  | 13,8 (a) | 5,09 (a) |
| Erva de Santa Maria<br>( <i>Chenopodium ambrisioides</i> ) | 4   | 88,3(ab) | 36,7 (a)  | 13,4 (a)  | 4,85 (a) |          |
|  | 1   | 88,3(ab) | 40,0 (a)  | 13,3 (a)  | 5,66 (a) |          |
|  | 2   | 91,7(ab) | 38,3 (a)  | 13,8 (a)  | 5,86 (a) |          |
|  | 3   | 80,0(ab) | 25,0 (a)  | 11,7 (a)  | 5,38 (a) |          |
|  | 4   | 71,7(b)  | 30,0 (a)  | 12,6 (a)  | 6,23 (a) |          |

\*Valores acompanhados de mesma letra e mesma coluna não apresentam variação estatística entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelos autores (2022).



O vigor das sementes, representado pelo desenvolvimento das raízes, não foi comprometido aos 6 meses, conforme observado por Vanzolini *et al.* (2007). Após 12 meses de armazenamento foi possível constatar-se uma queda acentuada no comprimento das raízes evidenciando a perda do vigor causada pelas condições ambientais nas quais as sementes estavam expostas.

Quando a velocidade de germinação (IVG) é avaliada é possível constatar que aos 6 meses de armazenamento o óleo de Aroeira pimenta a 1  $\mu\text{l/g}$  apresentou melhores resultados diferindo estatisticamente da testemunha e do tratamento de 4  $\mu\text{l/g}$  de óleo de Erva de Santa Maria. Da mesma forma que nos parâmetros germinação e comprimento de raiz, após um ano de armazenamento nas condições experimentais, todos os tratamentos apresentaram perda da velocidade de germinação, evidenciando o processo de deterioração das membranas das sementes (Tabela 2). Destaca-se que os últimos 6 meses de armazenamento coincidiram com as altas temperaturas ambientais dos meses de outubro a março na cidade de Seropédica, local do estudo em questão, cuja temperatura média no período foi de 25,9 °C.

**Tabela 2.** Efeito de diferentes dosagens de óleo essencial de Aroeira Pimenta e extrato oleoso de erva de Santa Maria Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de milho variedade eldorado aos 6 e 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente.

| TRATAMENTO   | $\mu\text{l/g}$ | IVG        | Condutividade<br>( $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) |            |           |
|--|-----------------|------------|--|------------|-----------|
|  |                 |            | 6 meses  | 12 meses   |           |
| Testemunha   | 0               | 5,11 (c)   | 2,42 (a)   | 16,64 (ab) | 20,53 (a) |
|  | 1               | 7,64 (a)   | 2,47 (a)   | 16,17 (ab) | 18,60 (a) |
|  | 2               | 6,97 (abc) | 2,28 (a)   | 15,85 (ab) | 23,32 (a) |
|  | 3               | 7,33 (ab)  | 2,33 (a)   | 17,60 (a)  | 21,47 (a) |
| Aroeira pimenta<br>( <i>Schinus terebinthifolia</i> )          | 4               | 7,11 (abc) | 2,53 (a)   | 17,31 (a)  | 24,04 (a) |
|  | 1               | 6,03 (abc) | 2,61 (a)   | 15,41 (b)  | 23,09 (a) |
|  | 2               | 6,56 (abc) | 2,42 (a)   | 15,75 (ab) | 23,99 (a) |
|  | 3               | 5,86 (abc) | 1,75 (a)   | 13,42 (b)  | 25,07 (a) |
| Erva de Santa Maria<br>( <i>Chenopodium<br/>ambrosioides</i> ) | 4               | 5,28 (bc)  | 1,86 (a)   | 16,84 (ab) | 26,60 (a) |

\*Valores acompanhados de mesma letra e mesma coluna não apresentam variação estatística entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelos autores (2022).

Sementes tratadas com 1  $\mu\text{l/g}$  e 3  $\mu\text{l/g}$  de óleo de Erva de Santa Maria apresentaram valores menores de condutividade e diferenciaram estatisticamente dos tratamentos com 3  $\mu\text{l/g}$  e 4  $\mu\text{l/g}$  de aroeira pimenta. Aos 12 meses de armazenamento não são observadas diferenças estatísticas na condutividade elétrica, evidenciando possível deterioração do sistema de membranas para todos os tratamentos. Entretanto, é possível observar que o uso de óleo de aroeira pimenta na concentração de 1  $\mu\text{l/g}$  apresentou menor condutividade evidenciando um efeito protetor deste óleo nesta concentração.

Estes resultados têm sido corroborados por várias pesquisas (MCDONALD et WILSON, 1979; POWELL, 1986; VIEIRA *et al.*, 2002), as quais têm demonstrado que a diminuição da germinação e do vigor se relaciona diretamente com a elevação da concentração de eletrólitos liberados pelas sementes durante a embebição. Segundo Coimbra *et al.* (2009), pesquisas realizadas com sementes de olerícolas e de grandes culturas têm demonstrado que o decréscimo na germinação e no vigor é diretamente proporcional ao aumento da concentração de eletrólitos liberados pelas sementes. A análise do material armazenado aos 6 e 12 meses



mostram que a queda da germinação está relacionada ao aumento da condutividade elétrica para todos os tratamentos. Assim, baixa condutividade indica sementes com alto vigor e alta condutividade, ou seja, maior quantidade de lixiviados, determina baixo vigor (VIEIRA et KRZYZANOWSKI, 1999; PANOBIANCO et MARCOS FILHO, 2001).

Grande parte da condutividade elétrica se deve a liberação de íons potássio através da membrana deteriorada. Segundo Lott *et al.* (1991) este íon é o mais lixiviado quando comparado a outros metais, estando relacionados diretamente a permeabilidade da membrana, e conseqüentemente ao processo de envelhecimento (Tabela 3).

A aroeira pimenta na dosagem de 1 µl/g aos 6 meses de armazenamento apresentou menor quantidade de açúcar liberado durante a imersão das sementes. Correlacionando este resultado com a germinação (Tabela 1) e IVG (Tabela 2) nesta dosagem, evidencia-se um efeito positivo do óleo essencial de Aroeira pimenta na manutenção das características fisiológicas da semente armazenada.

**Tabela 3.** Efeito de diferentes dosagens de óleo essencial de Aroeira Pimenta e extrato oleoso de erva de Santa Maria no potássio e açúcares lixiviados na solução de imersão do milho variedade eldorado aos 6 e 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente

| TRATAMENTO   | µl/g | K (ppm)   |            | Açúcar lixiviado<br>(mg de açúcar/g milho) |             |
|--|------|-----------|------------|--|-------------|
|  |      | 6 meses   | 12 meses   | 6 meses                                    | 12 meses    |
| Testemunha   | 0    | 17,0 (ab) | 35,4 (abc) | 2,89 (c)                                   | 23,43 (ab)  |
|  | 1    | 18,6 (ab) | 23,4 (bc)  | 4,33 (abc)                                 | 34,72 (abc) |
|  | 2    | 17,6 (ab) | 34,7 (abc) | 5,13 (ab)                                  | 34,72 (abc) |
|  | 3    | 20,8 (a)  | 34,7 (abc) | 3,71 (bc)                                  | 18,03 (c)   |
| Aroeira pimenta<br>( <i>Schinus terebinthifolia</i> )      | 4    | 22,3 (a)  | 18,0 (c)   | 5,68 (ab)                                  | 43,53 (a)   |
|  | 1    | 15,5 (b)  | 43,5 (a)   | 5,01 (abc)                                 | 33,95 (abc) |
|  | 2    | 18,2 (ab) | 34,0 (abc) | 6,23 (a)                                   | 40,60 (ab)  |
|  | 3    | 14,0 (b)  | 40,6 (ab)  | 3,66 (bc)                                  | 24,7 (bc)   |
| Erva de Santa Maria<br>( <i>Chenopodium ambrisioides</i> ) | 4    | 19,4 (ab) | 24,7 (abc) | 5,33 (ab)                                  | 34,5 (abc)  |

\*Valores acompanhados de mesma letra e mesma coluna não apresentam variação estatística entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelos autores (2022).

Sob condições de estresse, as plantas tendem a aumentar a atividade da peroxidase e, às vezes, esta é a primeira enzima a ter atividade alterada, independentemente do substrato utilizado ou do estresse aplicado (SIEGEL, 1993). Maiores atividades desta enzima representam a capacidade da própria membrana em resistir a este estresse, no caso as condições que deterioram a semente. Neste estudo constatou-se diferentes efeitos dos tratamentos na atividade da Peroxidase e na peroxidação de lipídeos nas sementes aos 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente (Tabela 4)


**Tabela 4.** Efeito de diferentes dosagens de óleo essencial de Aroeira Pimenta e extrato oleoso de erva de Santa Maria no potássio e açúcares lixiviados na solução de imersão do milho variedade eldorado aos 6 e 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente

| TRATAMENTO   | µl/g | Peroxidase | Peroxidação de lipídeos |
|--|------|------------|-------------------------|
| Testemunha   | 0    | 24,0 (b)   | 18,3 (b)                |
| Aroeira pimenta<br>( <i>Schinus terebinthifolia</i> )      | 1    | 58,4 (a)   | 22,1 (ab)               |
|  | 2    | 5,1 (e)    | 33,2 (a)                |
|  | 3    | 13,6 (cd)  | 23,1 (ab)               |
|  | 4    | 14,8 (c)   | 22,2 (ab)               |
| Erva de Santa Maria<br>( <i>Chenopodium ambrisioides</i> ) | 1    | 7,8 (d)    | 20,6 (ab)               |
|  | 2    | 9,2 (cde)  | 22,2 (ab)               |
|  | 3    | 3,9 (e)    | 21,7 (ab)               |
|  | 4    | 6,6 (e)    | 24,6 (ab)               |

\*Valores acompanhados de mesma letra e mesma coluna não apresentam variação estatística entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelos autores (2022).

É possível verificar maior atividade da peroxidase no tratamento com 1 µl/g de óleo essencial de aroeira pimenta. Altas atividades da enzima evidenciam maior capacidade de captura de espécies reativas ao oxigênio. Desse modo, óleo essencial nesta concentração é um indicativo da capacidade de proteção dada por este óleo. Ao mesmo tempo é possível verificar para todos os tratamentos com extrato oleoso de erva de Santa Maria, baixa atividade enzimática da peroxidase, o que se correlaciona a perda da germinabilidade e do vigor da semente. Corroboram com este resultado, Spinola *et al.* (2000) que observaram redução gradativa da atividade enzimática em sementes de milho submetidas ao envelhecimento acelerado até períodos de 72 horas. Os autores verificaram correlação da atividade desta enzima como resultados detectados pelos testes de qualidade fisiológica. Isto parece evidenciar um efeito antioxidante e ao mesmo tempo protetor das membranas da semente. Atividades mais baixas da enzima resultam na incapacidade de sequestrar as espécies reativas e consequentemente resultam na deterioração da semente.

Quando a atividade de peroxidase é comparada a condutividade elétrica aos 12 meses é possível observar que com 1 µl/g de óleo essencial de aroeira pimenta obteve-se maior atividade enzimática a qual correlaciona-se a menor condutividade elétrica e menor lixiviação de potássio frente a outros tratamentos. Danos oxidativos causados por radicais livres, que geralmente se acumulam em sementes secas, também envolvem a peroxidação de lipídios, mudanças na composição dos ácidos graxos, perdas de fosfolipídios e mudanças estruturais, afetando diretamente a estrutura das membranas, citada como uma das principais causas da deterioração das sementes (BRACINNI *et al.*, 2001).

No tocante a peroxidação de lipídeos aos 12 meses, as maiores concentrações de MDA são observadas no óleo de aroeira pimenta na concentração de 2 µl/g, não havendo diferença significativa para os demais tratamentos. Interessante observar que nesta concentração do óleo constata-se a menor atividade da peroxidase. Como a perda da viabilidade da semente correlaciona-se diretamente ao acúmulo de malonaldeído, fruto desta peroxidação pode-se inferir que ocorreu perda de integridade do sistema de membranas refletida na queda de germinação e vigor das sementes armazenadas por 12 meses.

## Conclusões

Após um ano de armazenamento nas condições experimentais, todos os tratamentos evidenciaram perda da velocidade de germinação, ratificando o efeito deletério causado pelas condições ambientais. Tratamento



feito com 1 µl/g do óleo de aroeira pimenta apresentou menores valores de condutividade elétrica, maior germinação e maior IVG refletindo efeito positivo do óleo na manutenção das características fisiológicas da semente armazenada por 6 meses. Aos 12 meses essa concentração de óleo de aroeira apresentou maior atividade da enzima peroxidase evidenciando uma possível ação protetora antioxidante.

## Referências

- ARAÚJO, J. M. A. Química de alimentos: teoria e prática. Viçosa: UFV, 1995.
- BRACCINI, A.L.; BRACCINI, M.C.L.; SCAPIM, C.A. Mecanismos de deterioração dassementes: aspectos bioquímicos e fisiológicos. Informativo ABRATES, Pelotas, v.11, n.1, p.10-15, 2001.
- BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. D. O.; Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. Journal off Ethnopharmacology, v. 111 (2), p. 396-402, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. DNPV. Divisão de Sementes e Mudas. Regras para Análise de Sementes... Brasília: MARA, 2009. 398p.
- CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. Metodologia para determinação da peroxidase e do polifenol oxidase em plantas. EMBRAPA: Comunicado Técnico 87. Pelotas/RS. 2003.
- CAPILHEIRA, A. F.; CAVALCANTE, J. A.; SILVA, R. N. O. da; VERGARA, R.; GADOTTI, G. I. Qualidade fisiológica de sementes de milho sob diferentes condições de armazenamento. Anais... XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Bento Gonçalves/RS. 2016. Disponível em: <[http://www.abms.org.br/cnms2016\\_trabalhos/docs/950.pdf](http://www.abms.org.br/cnms2016_trabalhos/docs/950.pdf)>. Acesso em: 28 jan. 2022.
- COIMBRA, R.A.; MARTINS, C.C.; TOMAZ, C.A.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (sh2). Ciência Rural, v.39, n.9, dez, 2009.
- COITINHO, R. L. B. C. et al. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre SitophiluszeamaisMots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. Revista Caatinga, v.19, p.176-182, 2006.
- DAVEY, MW; STALS, E.; PANIS, B.; KEULEMANS, J.; SUÉCIA. Determinação de alto rendimento de malondialdeído em tecidos vegetais. Bioquímica Analítica, v. 347, p. 201-207, 2005.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging technique for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science & Technology, v.1, n.1, p.427-452, 1973.
- FELIPE, P. V. D.; VIDAL, T. S.; GAROFOLO, A. C. S. Efeito de Óleos Essenciais de Plantas na Germinação de Sementes de Milho (Zea mays, Variedade Eldorado). Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 - Anais do 1º Congresso Online Internacional de Sementes Crioulas e Agrobiodiversidade - Dourados, Mato Grosso do Sul- v. 15, nº. 4, 2020. Disponível em: <<http://cadernos.aba-agroecologia.org.br/index.php/cadernos/article/view/6548>>. Acesso em: 21 set. 2021.



FREITAS, M. A influência do armazenamento de sementes na qualidade de plantio. Publicado em 24 ago. 2018. Disponível em: <<https://www.pioneersementes.com.br/blog/59/a-influencia-do-armazenamento-de-sementes-na-qualidade-de-plantio#:~:text=A%20melhor%20temperatura%20para%20fazer,o%20melhor%20aproveitamento%20das%20sementes.>>. Acesso em: 11 abr. 2022.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

JOSÉ, S.C.B.R.; SALOMÃO, A.N.; COSTA, T.S.A.; SILVA, J.T.T.T.; CURI, C.C.S. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. *Revista Brasileira de Sementes*, v.32, n.1, p.29-38, 2010.

KIM, S.; ROH, J.Y.; KIM, D.H.; LEE, H.S.; AHN, Y.J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*, v.39, n.1, p.293-303, 2003.

LEHNER, A. et al. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. *Journal of Cereal Science*, Melbourne, v. 47, n. 3, p. 555-565, 2008.

LIPINSKI, L.C.; WOUK, A.F.; DA SILVA, N.L.; PEROTTO, D.; OLLHOFF RD. Effects of 3 Topical Plant Extracts on Wound Healing in Beef Cattle. *Africal Journal of Traditional, Complementary and Alternative*, v.9, n.4, p.542-547, 2012.

LOTT, J.N.A.; CAVDEK, V. CARSON, J. Leakage of K, Mg, Cl, Ca and Mn from imbibing seeds, grains and isolated seed parts. *Seed Science Research*, 1:229-233, 1991.

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-21.

MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v.2, p. 176-177, 1962.

MARTINEZ, G.M.J.; BARREIRO, M.L.; RODRIGUEZ, Z.M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 % de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v.5, n.1, p.23-25, 2000.

McDONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, v.27, n.1, p.177-237, 1999.

MENEZES, E.L.A. *Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola*. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

MONZOTE, L.; STAMBERG, W.; STANIEK, K.; GILLE, L. Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and ascaridol e from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria. *Toxicology and Applied Pharmacology*, New York, v.240, n.3, p.337-347, 2009.



- PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. *Scientia Agrícola*, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.
- POWELL, A. A. Cell membranes and seed leakage conductivity in relation to the quality of seed for sowing. *Journal Seed Technology*, Springfield, v. 10, n.2, p. 81-100, 1976.
- PROCÓPIO, S.O.; VENDRAMIM, J.D.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I.; SANTOS, J.B. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação à *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Ciência e Agrotecnologia*, v.27, n.6, p.1231-1236, 2003.
- SANTOS, A.C.A.; ROSSATO, M.; AGOSTINI, F.; SANTOS, P.L.; SERAFINI, L.A.; MOYNA, P.; et al. Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, n.2, p.1011-1013, 2007.
- SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases: an organism perspective. *Plant Growth Regulation*, v.12, p. 303-312, 1993.
- SILVA NETA, I. C. Armazenamento de sementes de milho: importância e como fazer. *Sementes Biomatrix*. Publicado em 04 fev. 2021. Disponível em: <<https://sementesbiomatrix.com.br/blog/sementes/armazenamento-de-sementes-de-milho/>>. Acesso em: 30 jan. 2022.
- SILVESTRE, R.G.; NEVES, I.A.; CÂMARA, C.A.G. Acaricide activity of leaf essential oil from *Schinus terebinthifolius* Raddi on the two-spotted spider mite (Tetranychusurticae). *Brazilian Conference on Natural Products*, BPS-158, São Pedro. 2007.
- SPINOLA, M. C. M.; CÍCERO, S. M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. *Scientia Agrícola*, v.57, n.2, p.263-270, 2000.
- TAVARES, M.A.G.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade da erva de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology*, v.34, n.2, p.319-323, 2005.
- VIEIRA, R. D. et al. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.
- VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, C.F. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, C.F.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Eds.) *Vigor de sementes: Conceitos e testes*. Londrina, ABRATES. p.1-26. 1999.
- VANZOLINI, S.; ARAKI, C.A.S.; SILVA, A.C.T.M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. *Rev. bras. Sementes*, 29 (2): 90-96. 2007.
- VAZQUEZ, G. H.; CARDOSO, R.D.; PERES, A.R. Tratamento químico de sementes de milho e o teste de condutividade elétrica. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 773-781, May/June, 2014.