

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

DIVERGÊNCIA GENÉTICA, CRIOPRESERVAÇÃO E
ANÁLISE DE IMAGENS EM SEMENTES DE MAMONA

Autora: Karine Feliciano Barbosa
Orientadora: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

Rio Verde - GO
Fevereiro - 2018

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

DIVERGÊNCIA GENÉTICA, CRIOPRESERVAÇÃO E
ANÁLISE DE IMAGENS EM SEMENTES DE MAMONA

Autora: Karine Feliciano Barbosa
Orientadora: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS – AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. – Campus Rio Verde - Área de concentração Produção vegetal Sustentável no Cerrado.

Rio Verde - GO
Fevereiro - 2018

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

B238d BARBOSA, KARINE FELICIANO
DIVERGÊNCIA GENÉTICA, CRIOPRESERVAÇÃO E ANÁLISE DE
IMAGENS EM SEMENTES DE MAMONA / KARINE FELICIANO
BARBOSA;orientadora JULIANA DE FÁTIMA SALES. -- Rio
Verde, 2018.
59 p.

Tese (Doutorado em CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA) -- Instituto Federal Goiano, Câmpus Rio
Verde, 2018.

1. UPGMA. 2. armazenamento. 3. raio-X. 4.
genótipos de mamona. I. SALES, JULIANA DE FÁTIMA ,
orient. II. Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

DIVERGÊNCIA GENÉTICA, CRIOPRESERVAÇÃO E
ANÁLISE DE IMAGENS EM SEMENTES DE MAMONA

Autora: Karine Feliciano Barbosa
Orientadora: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

TITULAÇÃO: Doutora em Ciências Agrárias - Agronomia - Área de
concentração Ciências Agrárias - Agronomia

APROVADA em 27 de fevereiro de 2018.

Profa. Dr.^a Luciana Cristina Vitorino
Avaliadora interna
IF Goiano - Campus Rio Verde

Prof. Dr. Gessimar Nunes Camelo
Avaliador externo
IFMT - Campus Campo Novo do Parecis/MT

Prof. Dr. Fernando Higino de Lima Silva
Avaliador interno
IF Goiano - Campus Rio Verde

Prof. Dr. Jacson Zuchi
Avaliador externo
IFGoiano – Polo de Inovação

Profa. Dr.^a Juliana de Fátima Sales
Presidente da banca
IF Goiano - Campus Rio Verde

AGRADECIMENTOS

A Deus, a Nossa Senhora e ao Espírito Santo, por me darem saúde, força e sabedoria para conseguir chegar até este momento. Aos meus pais, Jesuina e Lucio Mar, pelo amor, compreensão, paciência e apoio imensuráveis em todas as etapas deste processo permitindo assim que eu alcançasse lugares onde não lhes foi permitido chegar, e também a minha irmã Meyrielle e ao meu cunhado Villiano, pelo carinho.

Ao longo do doutoramento vivi momentos muito tristes como a perda das minhas avós e de um avô, entre outros, mas momentos assim servem para nos fortalecer, e nesse processo pude contar com a presença amiga e parceira Ana Lúcia, que também passava pelo doutoramento, também agradeço grandemente pelo amparo e amor do graduando João Paulo, que longe me fortalecia.

Ao pessoal dos laboratórios de sementes, pós-colheita e anatomia, principalmente ao Daniel, Artur, Douglas, Hélder, Guilherme, Jennifer, Luiz César, Moara, Lívia, Amanda e Páblío. Não seria possível citar todos neste momento, mas agradeço de coração a todos que cooperaram para o meu sucesso.

À minha orientadora Juliana pela franqueza, ensinamentos e estímulos em momentos balizantes, também por sempre me aconselhar que no final tudo dá certo.

A empresa Sementes Goiás Ltda., pela parceria e doação das sementes utilizadas nos experimentos, e ainda por toda oportunidade de obtenção de conhecimento.

Ao professor Gessimar, que foi um colega de laboratório que contagiou com sua alegria, ao Jacson, por conseguir, junto ao CNPq, a aprovação do projeto em parceria com a empresa Sementes Goiás Ltda., a Kelly, pela ótima sugestão no experimento de raio-X, e por fim, e não menos fundamental, à professora Luciana, que acrescentou, colaborou e me ensinou em etapas importantes neste período com muita atenção e dedicação, e que nesta oportunidade todos se fazem membros da banca.

A todos os professores e colegas do doutoramento, em especial ao professor Osvaldo, que realmente é um exemplo a ser seguido.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, pela oportunidade deste, ao CNPq/Rhae, pela concessão da bolsa de 20 meses.

BIOGRAFIA DO AUTOR

KARINE FELICIANO BARBOSA, filha de Lucio Mar Barbosa Viêira e Jesuina Feliciano Barbosa, nasceu em Santa Helena de Goiás, Estado de Goiás, em 9 de março de 1990.

Em março de 2008, iniciou a graduação de Engenharia Agrícola na Universidade Estadual de Goiás - Unidade de Santa Helena de Goiás, GO, graduando-se em março de 2013.

Em março de 2013, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, em nível de Mestrado, no IF Goiano – Campus Rio Verde, tornando-se mestra em fevereiro de 2015.

Em março de 2015, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, em nível de Doutorado, na área de Sementes, submetendo-se à defesa da tese, requisito indispensável para a obtenção do título de Doutora em Ciências Agrárias - Agronomia, em fevereiro de 2018.

ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE TABELA	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	x
RESUMO	11
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO GERAL	15
1.1 Mamona	15
1.2 Criopreservação de sementes	16
1.3 Análise de imagens	17
1.4 Divergência genética	17
1.3 Referências bibliográficas	18
OBJETIVO GERAL	21
CAPÍTULO I	22
O GENÓTIPO DETERMINA A DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE <i>Ricinus communis</i> L.	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO II	36

O CRIOPROTETOR E O MÉTODO DE DESCONGELAMENTO AFETAM A QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES	36
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
CAPÍTULO III.....	47
A GERMINAÇÃO DE <i>Ricinus communis</i> L. PODE SER INFERIDA PELA ÁREA DE PREENCHIMENTOS DAS SEMENTES?	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
CONCLUSÃO GERAL.....	55
ANEXOS	566

ÍNDICE DE TABELA

	Página
CAPÍTULO I	
Tabela 1. Análise descritiva apresentando as médias gerais, desvio-padrão (DP), valores de mínimo, máximo e amplitude das 17 características avaliadas nos 5 genótipos de mamona.....	27
Tabela 2. Resumo das análises de variância para os dezessete caracteres utilizados para estimar a distância genética entre 5 genótipos de mamona	28
Tabela 3. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais, juntamente com sua importância relativa (Raiz %) e acumulada (%), referentes a 4 características morfológicas e fisiológicas de mamona	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO I	
Figura 1. Correlação de Pearson entre as 17 características avaliadas morfofisiológicas em cinco genótipos de <i>Ricinus communis</i> L.....	29
Figura 2. Dendrograma resultante da análise de dissimilaridade de cinco genótipos de <i>Ricinus communis</i> L., obtido pelo método de agrupamento UPGMA e utilizando como medida de distância genética – Mahalanobis.....	31
Figura 3. Dispersão gráfica formada pelos componentes principais 1 e 2, representando a distribuição dos 5 genótipos de mamona, em relação às 17 variáveis analisadas.	32
CAPÍTULO II	
Figura 1. Percentual de germinação das sementes de dois genótipos de <i>Ricinus communis</i> L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.....	40
Figura 2. Box-plot do percentual de emergência das sementes de dois genótipos de <i>Ricinus communis</i> L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.	41
Figura 3. Box-plot do comprimento total (cm) de plântulas oriundas das sementes de dois genótipos de <i>Ricinus communis</i> L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.	42
Figura 4. Box-plot da massa seca total (g) de plântulas oriundas de sementes de dois genótipos das sementes de dois genótipos de <i>Ricinus communis</i> L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.	43
Figura 5. Box-plot do percentual de germinação de sementes das sementes de dois genótipos de <i>Ricinus communis</i> L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.	44
CAPÍTULO III	
Figura 1 – Imagens das sementes de genótipos de mamona submetidas ao teste de raios-X, processadas pelo software QUANT, submetidas ao teste de germinação (14 dias) e percentual de preenchimento das sementes.	51

Figura 2 – Box-plot do Percentual de germinação de sementes de cinco genótipos de mamona, sob diferentes métodos colheitas e submetidas ao teste de raios-X..... 51

Figura 3 – Box-plot do Percentual de preenchimento de sementes de cinco genótipos de mamona sob diferentes métodos colheitas e submetidas ao teste de raios-X..... 52

ANEXOS

Figura 1. Plantas de seis genótipos de *Ricinus communis* L., utilizados nos experimentos, em seqüência: EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716. 56

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

B.O.D	Estufa incubadora para Demanda Bioquímica do Oxigênio	
b.u.	Base úmida	%
C	Comprimento de plântulas	cm
CE	Condutividade Elétrica	$\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes
CS	Comprimento da sementes	mm
EA	Teste de envelhecimento Acelerado	%
Em	Emergência	%
ES	Espessura da semente	mm
G1	1° contagem da germinação	%
GF	Contagem final de germinação	%
IVE	Índice de Velocidade de Emergência	número de emergidas dia^{-1}
IVG	Índice de Velocidade de Germinação	número de geminadas dia^{-1}
LS	Largura da semente	mm
MS	Massa Seca de plântulas	g
p	Probabilidade de significância	%
PCA	Análise de Componentes Principais	
QtR	Quantidade total de racemos	%
r	Coefficiente de determinação	%
TA	Teor de água	b.u.%
TF	Teste de Frio	%
TFR	Total de frutos por racemo	%
TFS	Total de frutos sadios	%
UPGMA	Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages	

RESUMO

BARBOSA, KARINE FELICIANO, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, fevereiro de 2018. **Divergência genética, criopreservação e análise de imagens em sementes de mamona.** Orientadora: Dr.^a Juliana de Fátima Sales. Coorientadores: Dr. Osvaldo Resende e Dr. Jacson Zuchi.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar genótipos de mamona por meio da divergência genética, criopreservação e raio-X. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Foram utilizadas sementes de 5 genótipos de mamona (EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716). Os frutos foram colhidos e debulhados manualmente. Os dados dos caracteres fisiológicos e morfológicos foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos de genótipos como fixos. As variáveis foram avaliadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson, sendo a força da relação analisada por meio dos valores de R e da significância da interação a 5% de probabilidade. As variáveis analisadas foram avaliadas por uma matriz de correlação e combinadas em uma análise de componentes principais (PCA). O número de componentes foi escolhido em função dos autovalores (>1.0) e a variância, explicada (acima de 80%). Posteriormente, com base nas médias dos caracteres avaliados, foi estimada a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) entre todos os genótipos. Os testes estatísticos foram conduzidos por meio do programa computacional Genes. Para o experimento de criopreservação, o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial $2 \times 2 \times 2$ (crioprotetor \times método de descongelamento \times genótipo) para as variáveis emergência, comprimento e massa total de plântulas, condutividade elétrica, para as variáveis germinação, testes de envelhecimento acelerado e frio. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste de F e as médias comparadas pelo Scott-Knott, a 5% de significância, utilizando o programa Sisvar. Para o experimento de raio-X, o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em arranjo fatorial 5×2 (genótipos \times método de colheita). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste de F e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de significância, utilizando o programa Sisvar. Os caracteres emergência, germinação, comprimento e massa seca de plântulas e total de frutos por racemo são os principais determinantes na quantificação da divergência genética entre os

genótipos de mamona. As divergências genéticas entre os genótipos estudados de mamona, resultam em caracteres morfológicos e fisiológicos, que promovem a formação clusters genéticos diferentes, sendo o genótipo EVF712 maior distância. O método de descongelamento em micro-ondas comprovou ser um método eficiente, assim como a criopreservação sem o uso de crioprotetor. O uso de crioprotetor reduz a germinação e a emergência de sementes de mamona, principalmente na criopreservação com DMSO (10%) e método de descongelamento em banho-maria.

Não foi possível correlacionar o percentual de preenchimento com o índice de germinação. O software QUANT v. 1.0. 0.22 pode ser utilizado como ferramenta para quantificar o preenchimento de sementes via imagens do teste de raios X.

PALAVRAS-CHAVES: UPGMA, armazenamento, raio-X, genótipos de mamona

ABSTRACT

BARBOSA, KARINE FELICIANO, Goiano Federal Institute of Education, Science and Technology - Rio Verde Campus, February 2018. **Genetic divergence, cryopreservation and analysis of images in castor bean seeds.** Advisor: Dr. Juliana de Fátima Sales. Co-Advisors: Dr. Osvaldo Resende and Dr. Jacson Zuchi.

In this work, the objective was to evaluate castor bean genotypes through genetic divergence, cryopreservation and X-ray. The experiment was carried out in the Seeds Laboratory of the Goiano Federal Institute - Rio Verde Campus. Seeds of 5 castor bean genotypes (EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 and EVF716) were used. The fruits were harvested and threshed manually. Physiological and morphological characters data were submitted to analysis of variance, considering the genotypes effects as fixed. The variables were evaluated using the Pearson correlation coefficient, the strength of the relationship was analyzed by means of the R values and the significance of the interaction at 5% of probability. The analyzed variables were evaluated by a correlation matrix and combined in a principal component analysis (PCA). The number of components was chosen according to eigenvalues (> 1.0) and the variance, explained (above 80%). Afterwards, based on the evaluated characters means, the generalized distance of Mahalanobis (D^2) was estimated among all the genotypes. The statistical tests were conducted using the Genes computational program. For the cryopreservation experiment, the experimental design was completely randomized, in a $2 \times 2 \times 2$ factorial arrangement (cryoprotect vs. defrost method \times genotype) for the variables emergence, length and total mass of seedlings, electrical conductivity, for germination variables, tests of accelerated and cold aging. The data were submitted to analysis of variance by the F test and the means compared by Scott-Knott, at 5% significance, using SISVAR program. For the X-ray experiment, the experimental design was completely randomized in a 5×2 factorial arrangement (genotypes \times harvesting method). Data were submitted to analysis of variance by the F test and the means compared by the Scott-Knott test, at 5% significance, using the SISVAR program. The emergence, germination, length and dry mass of seedlings and total fruits per racemic are the main determinants in the genetic divergence quantification among castor bean genotypes. Genetic divergences among the studied castor bean genotypes result in morphological and physiological characters, which

promote the formation of different genetic clusters, with the EVF712 genotype being more distant. The method of microwave defrosting proved to be an efficient method, as well as cryopreservation without the use of cryoprotectant. The use of cryoprotectants reduces the germination and emergence of castor bean seeds, especially with DMSO (10%) and thawing method in a water bath.

It was not possible to correlate the fill percentage with the germination index. The QUANT v. 1.0. 0.22 can be used as a tool to quantify the filling of seeds via X-ray test images.

KEY WORDS: UPGMA, storage, X-ray, castor bean genotypes

INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Mamona

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mamona (*Ricinus communis* L.), sendo o segundo exportador de óleo obtido das sementes (Savy Filho, 2005), em nível nacional sua produção concentra-se na região Nordeste com destaque para o Estado da Bahia (Conab, 2018).

Ricinus communis L. é uma importante cultura de sementes oleaginosas cultivadas em regiões áridas e semiáridas em todo o mundo. No Brasil, é principalmente cultivada por agricultores familiares da região nordeste do país (Vasconcelos et al., 2017).

A mamoneira, espécie que pertence à família Euphorbiaceae, possivelmente com origem no continente africano, é conhecida no Brasil como carrapateira, enxerida entre outras (Beltrão et al., 2001). Esta espécie é reconhecida pela qualidade e propriedades do óleo extraído de suas sementes, que possui diversas aplicações farmacêuticas e industriais (Anastasi et al., 2014; Severino et al., 2012; Wettasinghe et al., 2013).

Para a produção comercial de mamona, é indispensável o uso de sementes de elevada qualidade. Baixas produtividades comumente estão relacionadas à utilização de lotes de sementes de baixa germinação, reduzido vigor e alta contaminação por patógenos (Azevedo e Beltrão, 2007).

O desafio no cultivo da mamona é o uso de genótipos, cuja informação é indispensável para que os produtores tenham garantias da sua superioridade em relação às cultivares utilizadas, passando a investir mais e melhor na sua produção (Lopes et al., 2008). O cultivo de mamona, no Cerrado brasileiro, apareceu com a proposta de uma atividade alternativa para o cultivo de safrinha. Com isso o produtor sustenta sua atividade

principal e a oleaginosa complementa o sistema produtivo da propriedade (Tropaldi et al., 2010).

A forma dos frutos de mamona tem interferência pela redução do teor de água, ocasionando redução dos valores da esfericidade e circularidade (Goneli et al., 2011). Para verificação de vigor, os testes de envelhecimento acelerado e de frio são eficientes para avaliar o vigor de sementes de mamona (Mendes et al., 2010), assim como o teste de raios-X é oportuno para avaliar a qualidade da morfologia interna de sementes de mamona e seus efeitos no potencial fisiológico (Kabori et al, 2012). O armazenamento em ultrabaixas temperaturas pode ser realizado em sementes com teor de 6% b.u. de colheita, sem alterar a sua qualidade fisiológica (Almeida et al., 2002).

1.2 Criopreservação de sementes

A criopreservação é a técnica em que são utilizadas temperaturas extremamente baixas para reduzir ou inibir completamente o metabolismo celular (Batista, 2000), permitindo a manutenção da diversidade genética (Marcos Filho, 2005). Técnicas criogênicas podem garantir a preservação de material biológico por longos períodos, visto que quando o material vegetal é exposto a temperaturas ultrabaixas a intensidade do processo deteriorativo diminui expressivamente. Com isso, o material biológico pode ser preservado por período indeterminado de tempo (Harding, 2004; Benson, 2008).

Recentemente, a criopreservação é a técnica de conservação que garante o armazenamento em longo prazo de germoplasma por ter benefícios em relação a outras metodologias, como a redução/ eliminação de perdas causados no DNA, a oportunidade do material ser armazenado por período indeterminado (Engelmann, 2011; Pence, 2011).

O ponto mais crítico da técnica é o teor de água do material a ser criopreservado. Teores muito baixos culminam na desidratação demasiada e a morte das células, enquanto os teores de água altos ocasionam a formação de cristais de gelo no interior das células, levando a ruptura do sistema de membranas celulares (Santos, 2001).

Portanto, para que a preservação de material genético vegetal por meio de armazenamento aconteça de forma adequada, verifica-se a utilização de técnicas de criopreservação, assim como, a atividade de água com o intuito de conservar e manter as características do material para a perpetuação das espécies.

1.3 Análise de imagens

As informações sobre características físicas são de grande utilidade nos ramos da ciência ou tecnologia relacionadas com o comportamento físico e processamento de frutos e vegetais (Ribeiro et al., 2005). Ademais, os caracteres morfológicos são indícios da qualidade de plantas (Alves e Freire, 2017).

O teste de raios X é um método simples, rápido e não destrutivo que tem como objetivo detectar sementes vazias e/ou cheias e presença de danos internos ocasionados por insetos ou danos mecânicos. Essas informações podem ajudar a seleção de lotes em programas de controle da qualidade e, por conseguinte, aumentar a eficácia do sistema de produção (ISTA, 2004).

As análises de imagens radiografadas das sementes objetivam aumentar a eficiência da análise de sementes, permitindo sua inserção em programas de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes (Gomes Júnior, 2010). Assim, a captura e o processamento da imagem radiografada têm consentido o estabelecimento de relações entre integridade, morfologia e determinação da germinação das sementes (Marcos Filho et al., 2010).

Uma das variações morfológicas associadas ao desempenho das sementes é o tamanho do embrião, ou seja, seu grau de desenvolvimento em relação ao espaço disponível na cavidade interna da semente, estimado em uma proporção expressa em porcentagem. Essa característica foi avaliada por meio de análise de imagem em sementes radiografadas (Machado e Cicero, 2003; Pupim et al., 2008; Otoni et al., 2005), procurando associar os resultados à germinação e vigor.

1.4 Divergência genética

Atributos que potencializam o desempenho das sementes podem ser identificados quando consideradas a sanidade e a interação de atributos de natureza genética, física e fisiológica, que juntos formam o conjunto que evidencia a qualidade fisiológica das sementes, que determinará o seu valor para a semeadura (Hampton, 2002). A combinação de fatores dessa magnitude pode proporcionar indivíduos com características promissoras culminando em genótipos selecionados.

A utilização de índices de seleção em genótipos oportuniza a combinação das múltiplas informações envolvidas em uma unidade experimental, de maneira que viabilize a seleção com base em um conjunto de variáveis que agrupe múltiplos atributos de interesse (Cruz e Carneiro, 2014).

A estimativa da divergência genética é largamente empregada pelos melhoristas na seleção de genitores promissores. Este procedimento tem em vista eleger materiais mais promissores, reduzindo gastos e tempo imprescindível para concretização de vários cruzamentos, por tantas vezes desnecessários. Deste modo, esforços são centralizados em combinações híbridas entre genitores mais divergentes (Rinaldi et al., 2007).

1.3 Referências bibliográficas

ALMEIDA, F. A.C.; MORAIS, A.M.; CARVALHO, J.M.F.C.; GOUVEIA, J.P.G. Criopreservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v.6, n.2, p.295-302, 2002.

ALVES, F. J. B.; FREIRE, A. L. O. Crescimento inicial e qualidade de mudas de ipê-roxo (*Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC) Mattos) produzidas em diferentes substratos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 3, p. 195-202, 2017.

ANASTASI, U., SORTINO, O., COSENTINO, S.L., PATANÈ, C. Seed yield and oil quality of perennial castor bean in a Mediterranean environment. **International Journal of Plant Production**, v.9, p. 99–116, 2014.

AZEVEDO, D.M.P.; BELTRÃO, N.E.M. **O agronegócio da mamona no Brasil**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2007. 504p.

BATISTA, R.C. **Cultivo *in vitro* e criopreservação de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.)**. 2000. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande-PB.

BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, L. C.; VASCONCELOS, O. L.; AZEVEDO, D. M. P.; VIEIRA, D. J. Fitologia. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Embrapa Serviço de Comunicação Tecnológica, 2001. p. 37-61.

BENSON, E.E. Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory and practice. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.27, n.3, p.141-219, 2008.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Mamona Brasil: Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras 1976/77 a 2015/16 de Grãos, 2001 a 2016 de Café, 2005/06 a 2016/17 de Cana-de-Açúcar**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 04 de fevereiro 2018.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, v. 2, 668 p. 2014.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. In *Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, v.47, n.1, p.5-16, 2011.

GOMES JUNIOR, F. G. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo ABRATES**, v.20, n.3, p.33-51, 2010.

GONELI, A. L. D.; CORRÊA, O. C.; MAGALHÃES, F.E.A.; BAPTESTINI, F. M. Contração volumétrica e forma dos frutos de mamona durante a secagem. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 1-8, 2011.

HAMPTON, J. G. What is seed quality? **Seed Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 1-10, 2002.

HARDING, K. Genetic integrity of cryopreserved cells: a review. **Cryo Letters**, v. 25, n. 1, p. 3-22, 2004.

ISTA. International rules for seed testing association, Zurich, 174p. 2004.

KOBORI, N.N.; CICERO, S. M.; MEDINA, P.F. Teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 34, n. 1 p. 125 - 133, 2012.

LOPES, F. F. M.; BELTRÃO, N. E. M.; NETO, J. P. L.; PEDROZA, J. P. Crescimento inicial de genótipos de mamoneira com sementes submetidas ao envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira Oleagionosas Fibrosas**. v.12, n.2, p.69-79, 2008.

MACHADO, C.F.; CÍCERO, S.M. Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. - Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.393-397, 2003.

MARCOS FILHO, J.; GOMES JÚNIOR, F. G.; BENNETT, B. A.; WELLS A. A.; STIEVE, S. Using tomato analyzer software to determine embryo size in x-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 146-153, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. FEALQ. Piracicaba, 495p, 2005.

MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA; M. D.; DIAS, L. A. S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciência e agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 114-120, 2010.

OTONI, R.R.; McDONALD, M.B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Technology**, v.27, n.2, p.243-247, 2005.

PENCE, V. C. Evaluating costs for the in vitro propagation and preservation of endangered plants. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 47, n. 1, p. 176-187, 2011.

PUPIM, T.L.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CARVALHO, M.L.M.; CICERO, S.M. Adequação do teste de raios-X para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.28-32, 2008.

RIBEIRO, D. M.; CORRÊA, P. C.; RODRIGUES, D. H.; GONELI, A. L. D. Análise da variação das propriedades físicas dos grãos de soja durante o processo de secagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 611-617, 2005.

RINALDI, D. A.; CARPENTIERI, P. V.; GERAGE, A. C.; RUAS, A. C.; FONSECA JÚNIOR, N. S.; SOUZA, A.; SOUZA, S. G. H.; GARBUGLIO, D. D. RAD Correlação entre heterose e divergência genética estimadas por cruzamentos dialélicos e marcadores moleculares RAPD em populações de milho-pipoca. **Bragantia**, v. 06, n. 02, p. 183-192, 2007.

SAVY FILHO, A. **Mamona: tecnologia agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105p.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.20, p.60- 65, 2001.

SEVERINO, L.S., AULD, D.L., BALDANZI, M., CÂNDIDO, M.J.D., CHEN, G., CROSBY, W., TAN, D., HE, X., LAKSHMAMMA, P., LAVANYA, C., MACHADO, O.L.T., MIELKE, T., MILANI, M., MILLER, T.D., MORRIS, J.B., MORSE, S.A., NAVAS, A.A., SOARES, D.J., SOFIATTI, V., WANG, M.L., ZANOTTO, M.D., ZIELER, H. A review on the challenges for increased production of castor. **Agronomy Journal**, v. 104, p.853–880, 2012.

TROPALDI, L.; CAMARGO, J. A.; SMARSI, R. C.; KULCZYNSKI, S. M.; MENDONÇA, C. G.; BARBOSA, M. M. M. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de mamona submetidas a diferentes tratamentos químicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 1, p. 89-95, 2010.

VASCONCELOS, P. de C. T.; LOUREIRO, M. B.; LIMA, A. M. M. F.; RIBEIRO, P. R.; BERNAL, D. T.; MORENO, M. L. V.; FERNADEZ, L. G.; CASTRO, R. D. de. New insights into the mechanism underlying *Ricinus communis* L. tolerance to drought stress during germination. **Industrial Crops and Products**, v. 103, p. 99–106, 2017.

WETTASINGHE, R.C., ZABET-MOGHADDAM, M., RITCHIE, G., AULD, D.L. Relative quantitation of ricin in *Ricinus communis* seeds by image processing. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 654–660, 2013.

OBJETIVO GERAL

- Verificar se os genótipos EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716 se distanciam geneticamente por meio da observação de caracteres morfológicos e fisiológicos das sementes.
- Avaliar se diferentes métodos de criopreservação e descongelamento podem afetar a qualidade fisiológica de sementes de *Ricinus communis* L.
- Avaliar a relação entre a estrutura morfológica de sementes de mamona e índices de germinação, utilizando de teste físico, em contraste a imagens radiografadas das sementes.

CAPÍTULO I

O GENÓTIPO DETERMINA A DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Ricinus communis* L.

Resumo: A avaliação da divergência genética é amplamente empregada pelos melhoristas na seleção de genitores promissores. Com isso, objetivou-se verificar se os genótipos EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716 se distanciam geneticamente por meio da observação de caracteres morfológicos e fisiológicos das sementes. Foram utilizadas sementes de 5 genótipos de mamona, os dados dos caracteres fisiológicos e morfológicos foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos de genótipos como fixos. Posteriormente, as variáveis forma combinadas em uma PCA com base nas médias dos caracteres avaliados, foi estimada a dissimilaridade, com base na matriz de divergência genética, foi empregado o método de agrupamento da distância média UPGMA para a construção de um dendrograma. As sementes foram analisadas e avaliadas, segundo seus atributos e caracteres fisiológica e morfológicas, entre essas: germinação (contagem 1° e final), índice de velocidade de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, comprimento total e massa de plântulas, teste de envelhecimento acelerado, teste de frio, teste de condutividade elétrica, total de frutos por racemo, total de frutos sadios por racemo, quantidade de racemos, comprimento da semente, largura da semente, espessura da semente, teor de água. Os caracteres emergência, germinação, comprimento e massa seca de plântulas e total de frutos por racemo são os principais determinantes na quantificação da divergência genética entre os genótipos de mamona. As divergências genéticas entre os genótipos estudados de mamona, resultam em caracteres morfológicos e fisiológicos, que promovem a formação clusters genéticos diferentes, sendo o genótipo EVF712 maior distância.

Palavras-chaves: variabilidade genética, mamona, agrupamento.

GENOTYPE DETERMINES THE MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL DIVERSITY OF *Ricinus communis* L. SEEDS

Abstract: The assessment of genetic divergence is widely used by breeders in selecting promising parents. The objective of this study was to verify if the genotypes EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 and EVF716 are genetically distant by observing the

morphological and physiological characteristics of the seeds. Seeds of 5 castor bean genotypes were used, and physiological and morphological characters data were submitted to analysis of variance, considering the effects of genotypes as fixed. Later, the variables were combined in a PCA based on the means of the evaluated characters, then it was estimated the dissimilarity, based on the matrix of genetic divergence, The grouping method of the average distance UPGMA was used to construct a dendrogram. The seeds were analyzed and evaluated, according to their attributes and physiological and morphological characteristics, among them: germination (count 1^o and final), germination speed index, emergence, emergency speed index, total length and mass of seedlings, test of accelerated aging, cold test, electrical conductivity test, total fruits per racemic, total of healthy fruits per racemic, number of racemes, seed length, seed width, seed thickness, water content. The emergence, germination, length and dry mass of seedlings and total fruits per racemic are the main determinants in the quantification of genetic divergence among castor bean genotypes. Genetic divergences among the studied castor bean genotypes result in morphological and physiological characters, which formed different genetic clusters, with the EVF712 genotype being more distant.

Key words: genetic variability, castor bean, clustering.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mamona (*Ricinus communis* L.), sendo o segundo exportador de óleo obtido das sementes (Savy Filho, 2005), em nível nacional sua produção concentra-se na região Nordeste com destaque para o Estado da Bahia (Conab, 2018).

Ricinus communis L. é uma importante cultura de sementes oleaginosas cultivadas em regiões áridas e semiáridas em todo o mundo. No Brasil, é principalmente cultivada por agricultores familiares da região nordeste do país (Vasconcelos et al., 2017).

A mamoneira, espécie que pertence à família Euphorbiaceae, possivelmente com origem no continente africano, é conhecida no Brasil como carrapateira, enxada entre outras (Beltrão et al., 2001). Esta espécie é reconhecida pela qualidade e propriedades do óleo extraído de suas sementes, que possui diversas aplicações farmacêuticas e industriais (Anastasi et al., 2014; Severino et al., 2012; Wettasinghe et al., 2013).

Atributos que potencializam o desempenho das sementes podem ser identificados quando consideradas a sanidade e a interação de atributos de natureza genética, física e fisiológica, que juntos formam o conjunto que evidencia a qualidade fisiológica das sementes, que determinará o seu valor para a semeadura (Hampton, 2002). A combinação de fatores dessa magnitude pode proporcionar indivíduos com características promissoras culminando em genótipos selecionados.

A utilização de índices de seleção em genótipos oportuniza a combinação das múltiplas informações envolvidas em uma unidade experimental, de maneira que viabilize a seleção com base em um conjunto de variáveis que agrupe múltiplos atributos de interesse (Cruz e Carneiro, 2014).

A estimativa da divergência genética é largamente empregada pelos melhoristas na seleção de genitores promissores. Este procedimento tem em vista eleger materiais mais promissores, reduzindo gastos e tempo imprescindível para concretização de vários cruzamentos, por tantas vezes desnecessários. Deste modo, esforços são centralizados em combinações híbridas entre genitores mais divergentes (Rinaldi et al., 2007).

Partindo da hipótese de que diferentes caracteres fenotípicos expressos por genótipos de mamona podem estar relacionados a qualidade fisiológica das sementes, objetivou-se verificar se os genótipos EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716 se distanciam geneticamente por meio da observação de caracteres morfológicos e fisiológicos das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

1- CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE CULTIVO E OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Foram utilizadas sementes de 5 genótipos de mamona (EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716). As sementes foram obtidas por debulha manual dos frutos.

Plantas dos diferentes genótipos, bem como sementes, foram utilizadas para a observação de 6 caracteres morfológicos e 11 fisiológicos.

2- OBTENÇÃO DOS DADOS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS

Caracteres morfológicos:

Racemos - Frutos: foi realizada contagem de racemos por planta, frutos/cápsulas por racemo e frutos/cápsulas sadias por racemo.

Comprimento, largura e espessura de sementes: foi utilizado um paquímetro digital da marca Mtx com precisão de 0,01mm.

Caracteres fisiológicos:

Teste de germinação: com semeadura de oito repetições de 25 sementes sobre duas folhas de papel “germitest”, umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco (Brasil, 2009). Foram confeccionados rolos, que após acondicionados em sacos plásticos foram transferidos para B.O.D e mantidos a temperatura alternada de 20-30 °C (12-12 horas) por 14 dias. Foram realizadas contagens diárias, do número de sementes germinadas (com protrusão radicular maior que 1cm), para mensuração do IVG e contagens do número de plântulas normais no 7^a dia e do número de plântulas normais e anormais e sementes mortas no 14^a dia, para determinar os valores de primeira e última contagem. Os resultados foram expressos em percentagem.

Teste de emergência: com semeadura de quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em linha, sob leito de areia a 2 cm de profundidade e mantidas em casa de vegetação, com sistema de irrigação de aspersão diária de 10 minutos em 4 períodos. Foram realizadas contagens diárias, do número de plântulas emergidas (epicótilo visível), com o objetivo de verificar o IVE e contagem final, aos 21 dias, do número de plântulas normais. Os resultados foram expressos em percentagem.

Determinação do comprimento e da massa seca de plântulas total: paralelamente ao teste de emergência, foi realizada a determinação do comprimento total, com auxílio de uma régua milimétrica, de 10 plântulas normais, oriundas da contagem final de emergência (21 dias). Após a medição, as plântulas foram condicionadas em sacos de papel ‘Kraft’, levadas para uma estufa de circulação de ar e mantidas a temperatura de 80 °C por 24 horas. Após este período, as plântulas foram pesadas em balança de resolução 0,001 g. Os resultados foram expressos em gramas.

Teste de envelhecimento acelerado: foi realizado pelo método do “gerbox”, em que, sobre uma tela de alumínio, foram distribuídas 200 sementes, e, em cujo interior adicionou-se 40 mL de água destilada. Posteriormente, os “gerbox” foram mantidos em B.O.D a 42^o C, durante 72 horas. Ao final deste período, realizou-se o teste de germinação, conforme descrição anterior, avaliando-se o número de plântulas normais aos 7 dias após a semeadura (DAS).

Teste de frio: o teste de frio foi realizado em papel germitest sem solo, conforme as prescrições do teste de germinação, descrito anteriormente, em B.O.D. a 10°C, por cinco dias (Loeffler et al., 1985). Ao final deste período, os rolos foram transferidos para uma B.O.D. de temperatura alternada (12-12 horas) a 20-30 °C, avaliando-se o número

de plântulas normais, com comprimento igual ou superior a 3 cm, aos 7 dias após a semeadura.

O teste de condutividade elétrica: para a avaliação da condutividade elétrica da solução de embebição de sementes, foi utilizado o teste da “condutividade de massa” ou sistema de copo. Este teste foi realizado com quatro amostras de 25 sementes, e as mesmas foram pesadas com precisão de duas casas decimais. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em um recipiente 75 mL de água deionizada, e mantidas em B.O.D. a 25 °C, por 24 horas. Após este período, foi realizada a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição, em um condutivímetro (Medidor de condutividade de bancada micro processado, modelo TEC-4MP, Marca Tecnal). Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de sementes (Vieira e Krzyzanowski, 1999).

3- DELINIAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE GENÉTICA E ESTATÍSTICA

Os dados dos caracteres fisiológicos e morfológicos foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos de genótipos como fixos. As variáveis foram avaliadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson, sendo a força da relação, analisada por meio dos valores de r e da significância da interação a 5% de probabilidade. As variáveis foram também avaliadas por uma matriz de correlação e combinadas em uma análise de componentes principais (PCA). O número de componentes foi escolhido em função dos autovalores (>1.0) e a variância explicada (acima de 80%). Posteriormente, com base nas médias dos caracteres avaliados, foi estimada a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) entre todos os genótipos. Com base na matriz de distância genética, foi empregado o método de agrupamento da distância média UPGMA para a construção de um dendrograma, sendo que o ajuste entre a matriz de distâncias e o dendrograma foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (Sokal e Rohlf, 1962). As análises genéticas e estatísticas foram conduzidas por meio do programa computacional Genes (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise descritiva evidenciou variação nos caracteres avaliados, e pode ser verificada pela proporção dos valores de amplitude (Tabela 1). Observa-se ainda que os

maiores valores de amplitude ocorreram para as características fisiológicas G1, GF e CE, assim como para o desvio padrão.

Tabela 1. Análise descritiva apresentando as médias gerais, desvio-padrão (DP), valores de mínimo, máximo e amplitude das 17 características avaliadas em cinco genótipos de *Ricinus communis* L.

	Variáveis	Média	DP	Mínimo	Máximo	Amplitude
Caracteres morfológicos	TFR (%)	19,86	3,00	16,86	23,71	6,85
	TFS (%)	16,63	1,58	15,00	18,71	3,71
	QtR (%)	4,00	1,00	3,00	5,00	2,00
	CS (mm)	13,69	0,26	13,27	13,95	0,68
	LS (mm)	9,14	0,14	9,05	9,39	0,34
	ES (mm)	6,63	0,17	6,44	6,91	0,47
	TA (%)	5,71	1,16	5,06	7,77	2,71
Caracteres fisiológicos	G1 (%)	38,05	20,44	15,50	67,50	52,00
	GF (%)	62,95	17,19	41,00	80,50	39,50
	IVG %	3,11	1,18	1,19	4,14	2,95
	Em (%)	85,70	7,68	73,50	92,50	19,00
	IVE (%)	3,86	0,51	3,13	4,57	1,44
	C (cm)	22,63	1,47	20,70	24,62	3,92
	MS (g)	3,33	0,20	3,08	3,56	0,48
	TF (%)	35,10	4,33	30,00	41,00	11,00
	EA (%)	19,95	10,42	9,00	32,25	23,25
	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes)	72,03	14,42	54,44	90,14	35,70

TFR: total de frutos por racemo (%), TFS: total de frutos sadios por racemo (%), QtR: quantidade de racemos (%), CS: comprimento da semente (mm), LS: largura da semente (mm), ES: espessura da semente (mm), TA: teor de água (%), G1: 1° contagem da germinação (%), GF: contagem final da germinação (%), IVG: índice de velocidade de germinação (número de geminadas dia⁻¹), Em: emergência (%), IVE: índice de velocidade de emergência (número de emergidas dia⁻¹), C: comprimento total de plântulas (cm), MS: massa seca total de plântulas (g), TF: teste de frio (%), EA: envelhecimento acelerado (%), CE: condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes).

O percentual médio de germinação para os genótipos foi de 62,95, já o percentual máximo alcançado foi de 80,50, valor esse que é 13% superior ao percentual máximo atingido na germinação inicial. As sementes, quando submetidas as condições adversas como em teste de frio e envelhecimento acelerado, atingiram percentual de germinação 41 e 32,25, respectivamente. Observando, que o emprego do teste de germinação por si só não fornece resultados suficientes para detectar diferenças no potencial fisiológico das sementes, (Radke et al., 2016), necessitando de outros testes de vigor para complementar os resultados, tais como submeter as sementes em condições adversas.

Os testes de estresse, frio e envelhecimento acelerado são eficientes para a verificação da importância da temperatura no desenvolvimento de processos fisiológicos de sementes (Alvarenga et al., 2013), e as sementes utilizadas no estudo teve seu potencial afetado, reduzindo a germinação e conseqüentemente seu potencial fisiológico.

De acordo com o resumo das análises de variância (Tabela 2), observa-se que os genótipos não se diferenciam para as variáveis, CS, LS, TA, MS e TF. Cruz et al. (2012) afirma a importância respectiva dos caracteres, auxiliando no descarte de variáveis, permitindo melhor escolha dos atributos a serem ponderados numa avaliação de divergência entre ambientes.

Os genótipos EVF102 e EVF701 foram os que expressaram melhores resultados para o processo de aspectos germinativos. A importância do vigor é acentuada em relação a todos os aspectos do processo germinativo, a partir da velocidade de germinação até a alocação de massa seca nas plântulas (Simoni et al., 2011).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para dezessete caracteres morfológicos e fisiológicos utilizados para estimar a distância genética entre cinco genótipos de *Ricinus communis* L.

	Variáveis	Quadrado Médio		Média	CV (%)
		Genótipo	Erro		
Caracteres morfológicos	TFR	143,67**	32,93	19,86	28,90
	TFS	40,10ns	23,31	16,63	29,03
	QtR	1,00**	0,53	4,00	18,25
	CS	1,10ns	0,54	13,69	5,38
	LS	0,31ns	0,16	9,14	4,45
	ES	0,54**	0,77	6,63	4,18
	TA	21,46ns	12,05	5,71	60,78
Caracteres fisiológicos	G1	7548,20**	192,63	38,05	36,47
	GF	4730,20**	171,29	62,95	20,79
	IVG	22,23**	0,36	3,10	19,46
	Em	942,70**	83,39	85,70	10,65
	IVE	4,18**	0,24	3,86	12,79
	C	34,71**	2,95	22,63	7,58
	MS	0,58ns	0,24	3,33	14,85
	TF	299,30ns	123,12	35,10	31,61
	EA	1736,70**	97,88	19,95	49,59
CE	3327,73**	195,59	72,03	19,41	

TFR: total de frutos por racemo, TFS: total de frutos sadios por racemo, QtR: quantidade de racemos, CS: comprimento da semente, LS: largura da semente, ES; espessura da semente, TA: teor de água, G1: 1º contagem da germinação, GF: contagem final da

germinação, IVG: índice de velocidade de germinação, Em: emergência, IVE: índice de velocidade de emergência, C: comprimento total de plântulas, MS: massa seca total de plântulas, TF: teste de frio, EA: envelhecimento acelerado, CE: condutividade elétrica.

A relação entre as variáveis emergência X índice de velocidade de emergência e total de frutos por racemo X total de frutos sadios por racemo denotou correlação maior que $r = 0.85$; $p > 0.001$. Já, as correlações índice de velocidade de germinação X 1° contagem de germinação, contagem final de germinação e índice de velocidade de emergência, bem como a 1° contagem de germinação X contagem de germinação final e comprimento total X massa seca total de plântulas foram positivas apresentando valores superiores a $r = 0.60$; $p > 0.001$ (Figura 1).

A relação entre o envelhecimento acelerado X porcentagem de germinação inicial e final e o índice de velocidade de germinação apresentou correlação maior que $r = 0.57$; $p > 0.001$, demonstrando que as sementes que possuem alta capacidade para germinação são também as que germinam melhor após o teste de resistência a estresse. Se o genótipo define a germinação, o mesmo define também a capacidade de resistência ao envelhecimento acelerado.

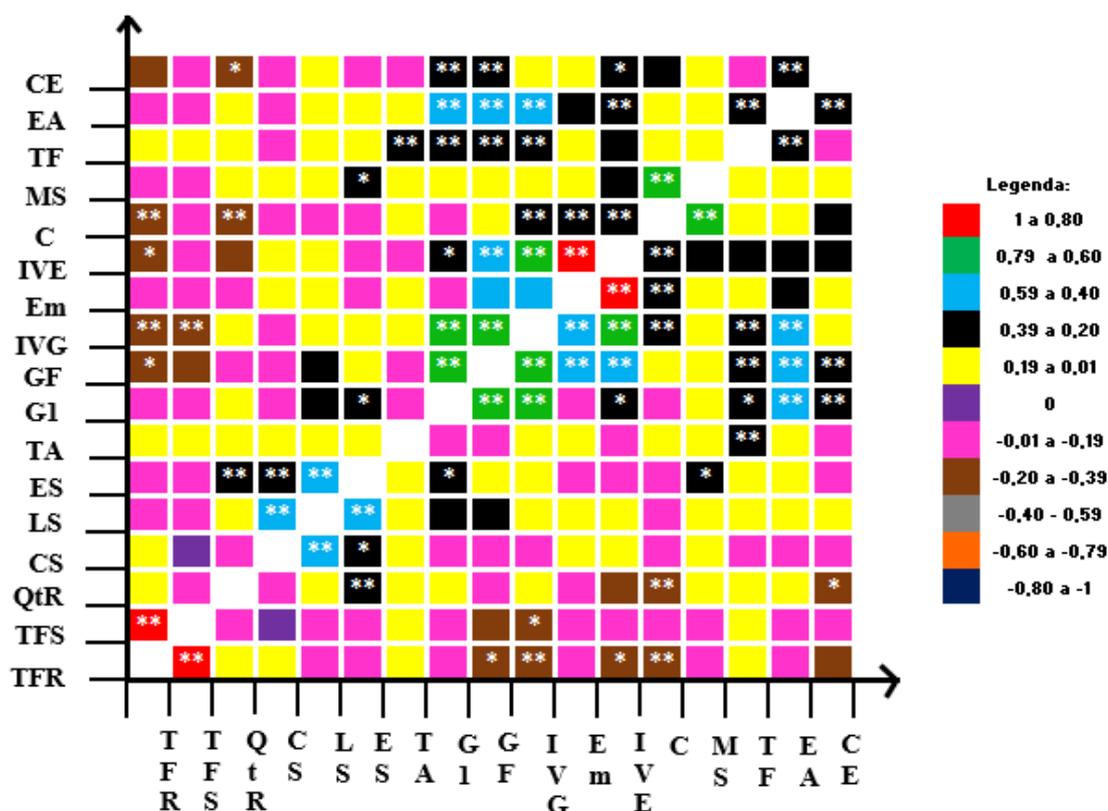


Figura 1. Correlação de Pearson entre as 17 características avaliadas morfofisiológicas em cinco genótipos de *Ricinus communis* L. ** e *: Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, os demais não foram significativos.

TFR: total de frutos por racemo, TFS: total de frutos sadios por racemo, QtR: quantidade de racemos, CS: comprimento da semente, LS: largura da semente, ES; espessura da semente, TA: teor de água, G1: 1^o contagem da germinação, GF: contagem final da germinação, IVG: índice de velocidade de germinação, Em: emergência, IVE: índice de velocidade de emergência, C: comprimento total de plântulas, MS: massa seca total de plântulas, TF: teste de frio, EA: envelhecimento acelerado, CE: condutividade elétrica.

Os caracteres de total de frutos sadios, índice de velocidade de emergência e emergência demonstraram correlação (Figura 1), o que não ocorreu na dispersão, em que o total de frutos sadios ficou distante dos demais caracteres. As distinções entre os resultados de diferentes métodos de análise multivariada são naturais, uma vez que as metodologias se baseiam em técnicas distintas de agrupamento (Azevedo et al., 2013).

A análise de componentes principais revelou que os 3 primeiros componentes concentraram 92,02% do total da variação (Tabela 3).

Tabela 3. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais, juntamente com sua importância relativa (Raiz %) e acumulada (%), referentes a características morfológicas e fisiológicas de cinco genótipos de *Ricinus communis* L.

CP ¹	Autovalor	Importância Relativa (%)	Acumulada (%)
CP ¹	8,63	50,73	50,72
CP ²	4,49	26,43	77,15
CP ³	2,53	14,87	92,02
CP ⁴	1,36	7,98	100,00

¹Cada componente principal é uma combinação linear das dezessete variáveis padronizadas.

Dentro dos componentes principais, ressalta-se que o caractere que mais contribuiu para a diferenciação entre os genótipos em relação ao CP1 foi o percentual da germinação final, tendo este o potencial de ser utilizado em pesquisas que terão como objetivo a seleção de genótipos para compor programas de melhoramento, conservação e identificação contrastantes a fim de alcançar cruzamentos favoráveis.

Ao usar o método UPGMA para agrupar os genótipos, foram encontrados dois grupos de afinidade (clusters) (Figura 2). Esses resultados evidenciam a grande diversidade genética existente entre genótipos de mamona avaliados.

Diversos estudos empregaram métodos de cluster baseados em dados moleculares, relataram sua eficiência na divergência genética dos materiais estudados (Coimbra et al., 2018; Pontes et al., 2017).

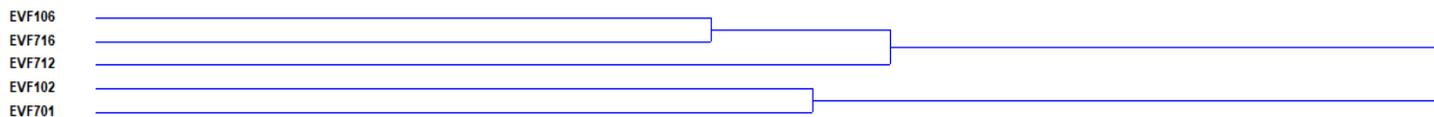


Figura 2. Dendrograma resultante da análise de dissimilaridade de cinco genótipos de *Ricinus communis* L., obtido pelo método de agrupamento UPGMA e utilizando como medida de distância genética – Mahalanobis.

Existem divergências genéticas entre os genótipos que determinam as diferenças morfológicas e fisiológicas das sementes de mamona estudados, promovendo a formação de diferentes grupos, tal como em genótipos de maracujazeiro azedo (Chagas et al., 2016).

Os genótipos EVF102, EVF701 e EVF716 apresentaram maior distância em relação ao genótipo EVF712, quando realizado a estimativa de distância de Mahalanobis, quando observado a menor distância os genótipos EVF712 e EVF716 ficaram a menor distância do EVF106.

A partir da análise da dispersão gráfica, foi possível separar os genótipos também em dois grupos, da mesma forma que o observado no dendrograma ilustrativo. O mesmo não ocorreu em genótipos de batata-doce que apresentaram a mesma quantidade de grupos nas duas representações, porém houve um genótipo alocado em grupos distintos nas representações (Azevedo et al., 2015).

A figura 3, sobre a dispersão gráfica formada pelos componentes principais 1 e 2, representando a distribuição dos 5 genótipos de mamona e a dispersão dos caracteres morfofisiológicos, indica que os genótipos EVF102 e EVF701 apresentam características que os proporcionam similaridade, assim como o EVF106 e EVF716 que, por sua vez, se assemelham ao genótipo EVF712.

Rodrigues et al., (2014), trabalhando também com genótipos de mamona, verificaram que a utilização dos caracteres multicategóricos se mostrou eficiente para determinação da divergência genética entre os acessos. O mesmo foi verificado neste estudo.

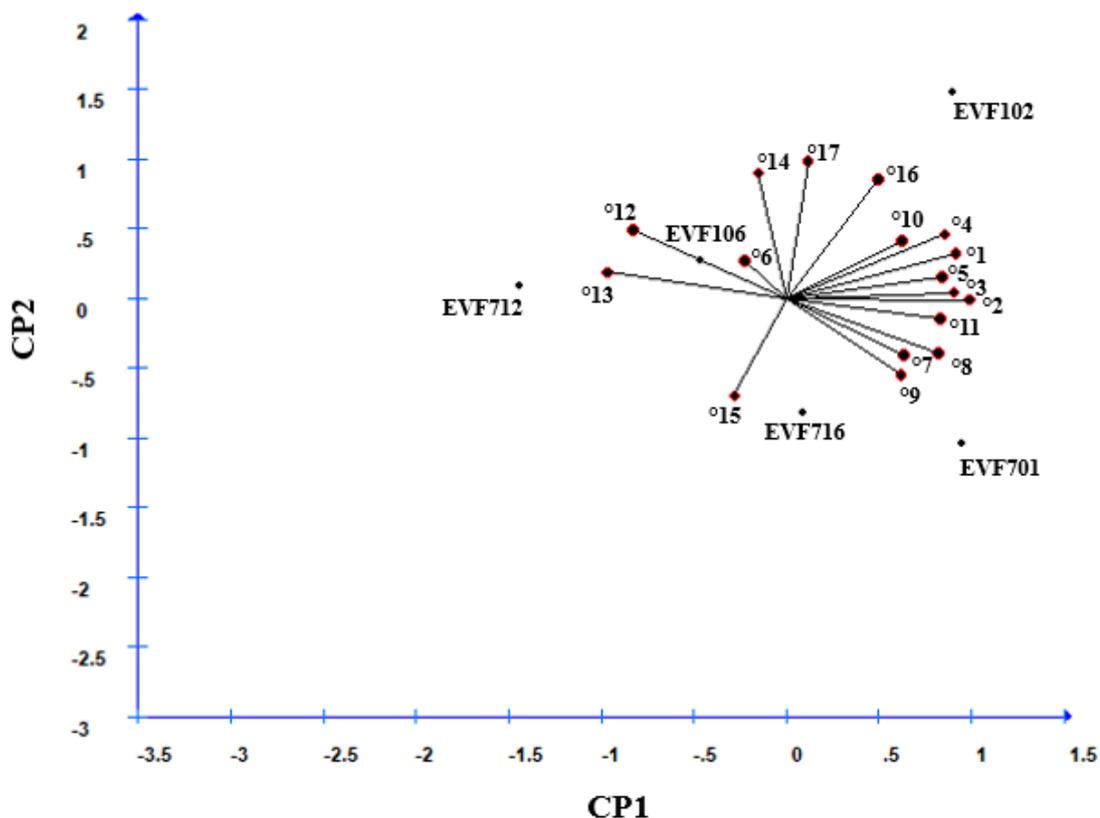


Figura 3. Dispersão gráfica formada pelos componentes principais 1 e 2, representando a distribuição dos 5 genótipos de mamona, em relação às 17 variáveis analisadas.

°₁ - G1: 1° contagem da germinação, °₂ - GF: contagem final da germinação, °₃ - IVG: índice de velocidade de germinação, °₄ - TF: teste de frio, °₅ - EA: envelhecimento acelerado, °₆ - TA: teor de água, °₇ - Em: emergência, °₈ - IVE: índice de velocidade de emergência, °₉ - C: comprimento total de plântulas, °₁₀ - MS: massa seca total de plântulas, °₁₁ - CE: condutividade elétrica, °₁₂ - TFR: total de frutos por racemo, °₁₃ - TFS: total de frutos sadios por racemo, °₁₄ - QtR: quantidade de racemos, °₁₅ - CS: comprimento da semente, °₁₆ - LS: largura da semente, °₁₇ - ES; espessura da semente,

Analisando a dispersão gráfica representada pelas 17 variáveis, mostra que, para as características total de frutos sadios e total de frutos por racemo, houve semelhança, dispersando-se em relação às demais características analisadas, mostrando perfeita similaridade entre os caracteres fisiológicos.

Os caracteres morfológicos dos racemos (TFR, TFS e QtR) apresentaram uma proximidade forte dos caracteres morfológicos das sementes (CS, LS e ES), evidenciando a estreita relação entre planta e semente no agrupamento de dados.

O desempenho de sementes, até mesmo a germinação, varia entre espécies. Embora exista influência efetiva do ambiente, essa característica apresenta prioridade em

programas de melhoramento genético, especialmente em espécies com maior predisposição a deterioração (Marcos Filho, 2015).

CONCLUSÃO

Os caracteres emergência, germinação, comprimento e massa seca de plântulas e total de frutos por racemo são os principais determinantes na quantificação da divergência genética entre os genótipos de mamona.

As divergências genéticas entre os genótipos estudados de mamona, resultam em caracteres morfológicos e fisiológicos, que promovem a formação clusters genéticos diferentes, sendo o genótipo EVF712 maior distância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, R.O.; FILHO, J.M.; TIMÓTEO, T.S. Assessment of the physiological potential of super sweet corn seeds. **Journal of Seed Science**, v.35. n.3, p. 340-346, 2013.

ANASTASI, U., SORTINO, O., COSENTINO, S.L., PATANÈ, C. Seed yield and oil quality of perennial castor bean in a Mediterranean environment. **International Journal of Plant Production**, v.9, p. 99–116, 2014.

AZEVEDO, A. M.; ANDRADE JUNIOR, V. C.; FIGUEIREDO, J. A.; PEDROSA, C. E.; VIANA, D. J. S.; LEMOS, V. T.; NEIVA, I. P. Divergência genética e importância de caracteres em genótipos de batata-doce visando a produção de silagem. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10, n.3, p.479-484, 2015.

AZEVEDO, A. M.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; OLIVEIRA, C. M.; FERNANDES, J. S. C.; PEDROSA, C. E.; DORNAS, M. F. S.; CASTRO, B. M. C. Seleção de genótipos de alface para cultivo protegido: divergência genética e importância de caracteres. **Horticultura Brasileira**, v.31, n.2, p.260-265, 2013.

BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, L. C.; VASCONCELOS, O. L.; AZEVEDO, D. M. P.; VIEIRA, D. J. Fitologia. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Embrapa Serviço de Comunicação Tecnológica, 2001. p. 37-61.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009.

CHAGAS, K.; ALEXANDRE, G. V.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SILVA, D. J. H.; OLIVEIRA, E. C. A. M. Genetic diversity in genotypes of the sour passion fruit, based on the physical and chemical characteristics of the fruit. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 3, p. 524-531, 2016.

COIMBRA, R. R.; MIRANDA, G. V.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SILVA, D. J. H.; OLIVEIRA, E. C. A. M. Molecular characterization of a corn core collection–landraces subgroup. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 12, n. 1, p. 395-408, 2018.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Mamona Brasil:** Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras 1976/77 a 2015/16 de Grãos, 2001 a 2016 de Café, 2005/06 a 2016/17 de Cana-de-Açúcar. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 10 de fevereiro. 2018.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, v. 2, 668 p. 2014.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.35, p.271-276, 2013.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v.1, 4. ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.

HAMPTON, J. G. What is seed quality? **Seed Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 1-10, 2002.

LOEFFLER, N.L.; MEIER, J.L.; BURRIS, J.S. Comparasion of two cold test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, v.13, n.3, p.653-658, 1985.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. ABRATES. Londrina, 660p, 2015.

PONTES, L. C. G.; MOURA, E. F.; MOURA, M. F.; RODRIGUES, S. M.; OLIVEIRA, M. S. P., CARVALHO, J. E. U.; THERRIER, J. Molecular characterization of progenies of bacurizeiro (*Platonia insignis*) from Marajó Island, northeastern Amazon. **Acta Amazonica**. v. 47, n. 4, p. 293-300, 2017.

RADKE, A.K.; REIS, B.B.; GEWEHR, É.; ALMEIDA, A.S.; TUNES, L.M.; VILLELA, F.A. Alternativas metodológicas do teste de envelhecimento acelerado em sementes de coentro. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 95- 99, 2016.

RINALDI, D. A.; CARPENTIERI, P. V.; GERAGE, A. C.; RUAS, A. C.; FONSECA JÚNIOR, N. S.; SOUZA, A.; SOUZA, S. G. H.; GARBUGLIO, D. D. RADCorrelação entre heterose e divergência genética estimadas por cruzamentos dialélicos e marcadores moleculares RAPD em populações de milho-pipoca. **Bragantia**, v. 06, n. 02, p. 183-192, 2007.

RODRIGUES, H. C. A.; CARVALHO, S. P.; CARVALHO, A. A Determination of genetic divergence among castor bean accesses by using binary and multicategorical characters. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.13, n.3, p.247-254, 2014.

SAVY FILHO, A. **Mamona: tecnologia agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105p.

SEVERINO, L.S., AULD, D.L., BALDANZI, M., CÂNDIDO, M.J.D., CHEN, G., CROSBY, W., TAN, D., HE, X., LAKSHMAMMA, P., LAVANYA, C., MACHADO,

O.L.T., MIELKE, T., MILANI, M., MILLER, T.D., MORRIS, J.B., MORSE, S.A., NAVAS, A.A., SOARES, D.J., SOFIATTI, V., WANG, M.L., ZANOTTO, M.D., ZIELER, H. A review on the challenges for increased production of castor. **Agronomy Journal**, v. 104, p.853–880, 2012.

SIMONI, F.; COSTA, R.S.; FOGAÇA, C.A.; GEROLINETO, E. Sementes de *Sorghum bicolor* L. - Gramineae, submetidas ao estresse hídrico simulado com PEG (6000). **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v.11, n.1, p.188-192, 2011.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, n.2, p.33-40, 1962.

VASCONCELOS, P. de C. T.; LOUREIRO, M. B.; LIMA, A. M. M. F.; RIBEIRO, P. R.; BERNAL, D. T.; MORENO, M. L. V.; FERNADEZ, L. G.; CASTRO, R. D. de. New insights into the mechanism underlying *Ricinus communis* L. tolerance to drought stress during germination. **Industrial Crops and Products**, v. 103, p. 99–106, 2017.

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

WETTASINGHE, R.C., ZABET-MOGHADDAM, M., RITCHIE, G., AULD, D.L. Relative quantitation of ricin in *Ricinus communis* seeds by image processing. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 654–660, 2013.

CAPÍTULO II

O CRIOPROTETOR E O MÉTODO DE DESCONGELAMENTO AFETAM A QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES

Resumo: A criopreservação é uma técnica utilizada para o armazenamento a longo prazo e sem minimizar a qualidade fisiológica. Assim, objetivou-se avaliar se diferentes métodos de criopreservação e descongelamento podem afetar a qualidade fisiológica de sementes de *Ricinus communis* L. Foram utilizadas sementes de 2 genótipos de mamona, colhidas. O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes do IF Goiano/Campus Rio Verde. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2 x 2 x 2 (crioprotetor x método de descongelamento x genótipo). Após 30 dias de criopreservação, as sementes foram submetidas ao descongelamento, e em seguida avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes, pelos testes de germinação, emergência, comprimento e massa seca de plantas, envelhecimento acelerado, teste de frio e condutividade elétrica. O método de descongelamento em micro-ondas comprovou ser um método eficiente, assim como a criopreservação sem o uso de crioprotetor. O uso de crioprotetor reduz a germinação e a emergência de sementes de mamona, principalmente na criopreservação com DMSO (10%) e método de descongelamento em banho-maria.

Palavras-chaves: criogenia, *Ricinus communis* L., germinação.

CRYOPROTETOR AND THE DEFROSTING METHOD AFFECT THE PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SEEDS

Abstract: Cryopreservation is a technique used for long-term storage without minimizing physiological quality. The objective of this study was to evaluate whether

different methods of cryopreservation and thawing can affect the physiological quality of *Ricinus communis* L. seeds. Seeds of 2 castor bean genotypes were harvested. The experiment was carried out at the Seed Laboratory of IF Goiano / Rio Verde Campus. The experimental design was completely randomized, in factorial arrangement 2 x 2 x 2 (cryoprotectant x thaw method x genotype). After 30 days of cryopreservation, the seeds were subjected to thawing, and the physiological quality of the seeds was evaluated by germination, emergence, length and dry mass tests, accelerated aging, cold test and electrical conductivity tests. The method of microwave defrosting proved to be an efficient method, as well as cryopreservation without the use of cryoprotectant. The use of cryoprotectants reduces the germination and emergence of castor bean seeds, especially with DMSO (10%) and thawing method in a water bath.

Key words: cryogenic, *Ricinus communis* L., germination.

INTRODUÇÃO

A mamoneira pertence à família Euphorbiaceae originou-se possivelmente, no continente africano. É uma espécie que apresenta boa produtividade em locais com pluviosidade entre 600 e 700 mm (Beltrão et al., 2002), demonstrando potencial de exploração econômica no Nordeste brasileiro.

No Brasil, é denominada de carrapateira, enxerida, entre outros (Beltrão et al., 2001) e seu principal produto é o óleo, com grande importância econômica e alta empregabilidade na indústria de variados segmentos (Azevedo e Lima, 2001). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mamona (*Ricinus communis* L.) e o segundo maior exportador de óleo (Savy Filho, 2005), sendo que a produção mais expressiva se concentra no Estado da Bahia.

A criopreservação é uma importante técnica para conservação de sementes e embriões, auxiliando na conservação de germoplasmas e diversidade genética (Marcos Filho, 2005), pois utiliza temperaturas extremamente baixas para reduzir o metabolismo celular (Batista, 2000). A redução do metabolismo e das atividades bioquímicas da semente inibe a deterioração biológica (Kartha, 1985), preservando o material biológico por um período de tempo (Harding, 2004; Benson, 2008).

O ponto mais crítico da técnica é o teor de água do material a ser criopreservado. Teores muito baixos culminam na desidratação demasiada e a morte das células, enquanto os teores de água altos ocasionam a formação de cristais de gelo no interior das células, levando à ruptura do sistema de membranas celulares (Santos, 2001).

O objetivo foi avaliar se diferentes métodos de criopreservação e descongelamento podem afetar a qualidade fisiológica de sementes de *Ricinus communis* L.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Foram utilizadas sementes de 2 genótipos de mamona (EVF102 e EVF701, os frutos foram colhidos e debulhados manualmente.

As sementes com teor de água inicial 6,0 % (b. u.) foram submetidas aos tratamentos nitrogênio líquido sem crioprotetor (-196 °C); nitrogênio líquido com crioprotetor glicerol (10%) (-196 °C); nitrogênio líquido com crioprotetor dimetilsulfóxido (DMSO) (10%) (-196 °C), sendo embaladas em papel alumínio e acondicionadas em tubos cilíndricos de alumínio (canister). Em seguida, foram colocadas em botijões criogênicos contendo nitrogênio líquido (-196 °C) por 30 dias.

Após 30 dias de criopreservação, as sementes foram submetidas a 2 métodos de descongelamento: descongelamento rápido (em banho-maria, a temperatura de 60 °C durante três minutos) e descongelamento em micro-ondas (com potência de 1500 w durante seis minutos). Após o descongelamento, as sementes foram lavadas com água gelada, a fim de evitar o choque térmico e posteriormente avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes, pelos seguintes testes:

Teste de germinação: com semeadura de oito repetições de 25 sementes sobre duas folhas de papel “germitest”, umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco (Brasil, 2009). Foram confeccionados rolos que, após acondicionados em sacos plásticos, foram transferidos para B.O.D e mantidos a temperatura alternada de 20-30 °C (12-12 horas) por 14 dias. Foram realizadas contagens diárias do número de sementes germinadas, com protrusão radicular maior que 1centímetro, e contagens do número de plântulas normais no 7^a dia e do número de plântulas normais e anormais e sementes mortas no 14^a dia. Os resultados foram expressos em percentagem.

Teste de emergência: com semeadura de quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em linha, sob leito de areia a 2 cm de profundidade e mantidas em casa de vegetação, com sistema de irrigação de aspersão diária de 10 minutos em 4 períodos. Foram realizadas contagens diárias, do número de plântulas emergidas (epicótilo visível),

e contagem final, aos 21 dias, do número de plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Determinação do comprimento e da massa seca de plântulas total: paralelamente ao teste de emergência, foi realizada a determinação do comprimento total, com auxílio de uma régua milimétrica, de 10 plântulas normais, oriundas da contagem final de emergência (21 dias). Após a medição, as plântulas foram alocadas em sacos de papel 'Kraft' e levadas para uma estufa de circulação de ar e mantidas a temperatura de 80 °C por 24 horas. Após este período, as plântulas foram pesadas em balança de resolução 0,001 g. Os resultados foram expressos em gramas.

Teste de envelhecimento acelerado: foi realizado pelo método do "gerbox", e sobre uma tela de alumínio, foram distribuídas 200 sementes, em cujo interior adicionou-se 40 mL de água destilada. Posteriormente, os "gerbox" foram mantidos em B.O.D a 42^o C, durante 72 horas. Ao final deste período, realizou-se o teste de germinação, conforme descrição anterior, avaliando-se o número de plântulas normais aos 7 dias após a semeadura.

Teste de frio: o teste de frio foi realizado em papel germitest sem solo, conforme as prescrições do teste de germinação, descrito anteriormente, em B.O.D. a 10°C, por cinco dias (Loeffler et al., 1985). Ao final deste período, os rolos foram transferidos para uma B.O.D. de temperatura alternada (12-12 horas) a 20-30 °C, avaliando-se o número de plântulas normais, com comprimento igual ou superior a 3 cm, aos 7 dias após a semeadura.

Teste de condutividade elétrica: para a avaliação da condutividade elétrica da solução de embebição de sementes, foi utilizado o teste da "condutividade de massa" ou sistema de copo. Este teste foi realizado com quatro amostras de 25 sementes, as mesmas foram pesadas com precisão de duas casas decimais. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em um recipiente 75 mL de água deionizada e mantidas em B.O.D. a 25 °C, por 24 horas. Após este período, foi realizada a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição, em um condutímetro (Medidor de condutividade de bancada microprocessado, modelo TEC-4MP, Marca Tecnal). Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes (Vieira e Krzyzanowski, 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2 x 2 x 2 (crioprotetor x método de descongelamento x genótipo), os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste de F e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de significância, utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2011). Adicionalmente,

foram gerados os gráficos de caixa (box-plot) para obter a visualização gráfica dos dados, visando diferenciar os tratamentos para algumas variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual de germinação foi maior para as de sementes de mamona criopreservadas sem uso de crioprotetor, para os dois genótipos, independentemente do método de descongelamento. O mesmo não foi observado em sementes de *Pinus elliotti* Engelm, em que não se encontrou diferença entre os métodos de descongelamento (Fonseca et al., 2012), assim como em sementes *Strychnos pseudoquina* A. St. Hil (Silva et al, 2012).

Os genótipos não diferiram para a condição de criopreservação sem uso de crioprotetor, demonstrando excelente resultados de germinação, com percentual de germinação maior que 91, já para as sementes criopreservadas com uso de DMSO e descongelamento em micro-ondas, o genótipo EVF701 mostrou-se superior ao genótipo EVF102. O resultado obtido com análise permitiu verificar a interação tripla entre os tratamentos.

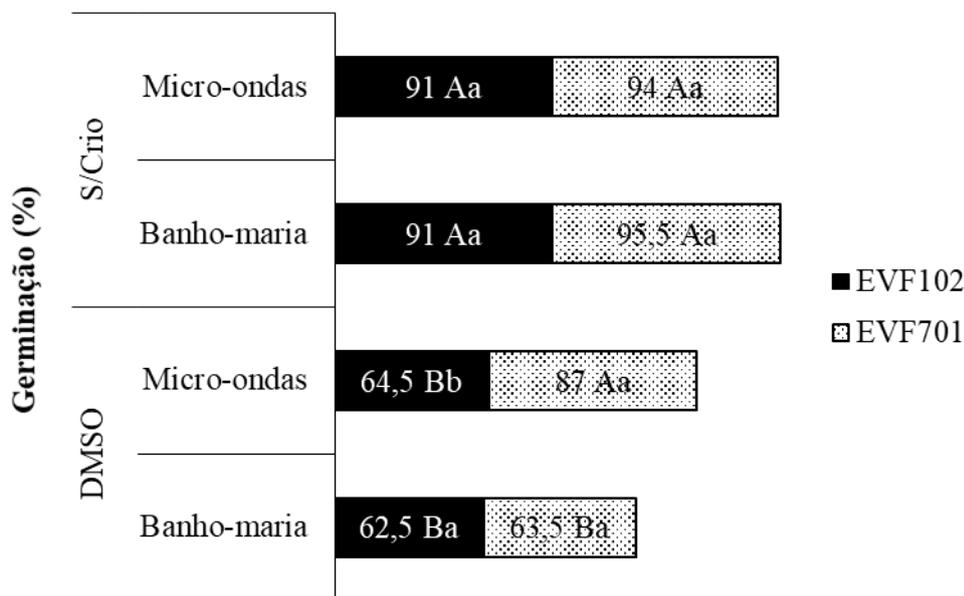


Figura 1. Percentual de germinação das sementes de dois genótipos de *Ricinus communis* L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (crioprotetor dentro do genótipo e método de descongelamento) e minúscula (genótipo dentro do método de descongelamento e crioprotetor) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. S/CRIO - sementes sem crioprotetores; DMSO- crioprotetor dimetilsulfóxido;

A emergência de plântulas de mamona foi inferior nas sementes criopreservadas com DMSO e descongeladas em banho-maria, para ambos os genótipos (Figura 2). Contudo, quando o uso deste crioprotetor foi associado ao descongelamento em micro-ondas a emergência não reduziu em relação aos demais tratamentos.

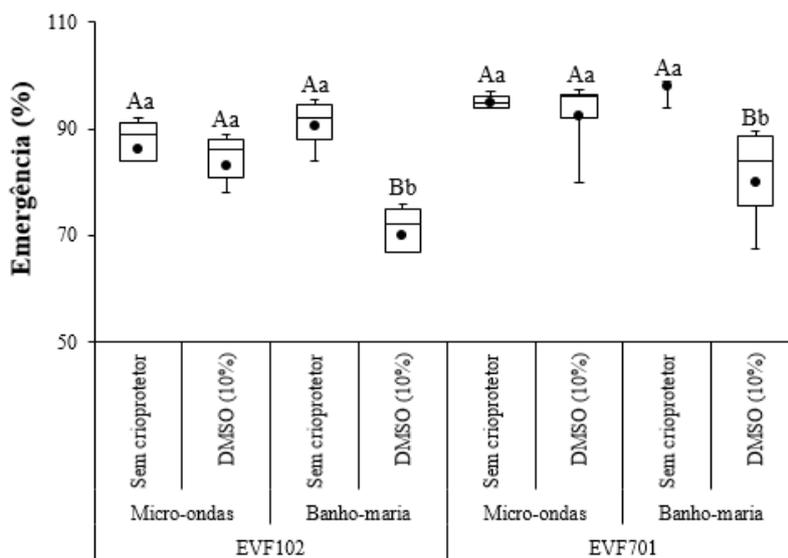


Figura 2. Box-plot do percentual de emergência das sementes de dois genótipos de *Ricinus communis* L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (método de descongelamento) e minúscula (crioprotetores) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. S/CRIO - sementes sem crioprotetores; DMSO- crioprotetor dimetilsulfóxido 10%;

O genótipo EVF701 com sementes sem crioprotetor e descongeladas em banho-maria proporcionou média similar a mediana, evidenciando o menor box-plot e consequentemente a menor variabilidade, demonstrando uma homogeneidade dos dados.

O comprimento total das plântulas de mamona foi semelhante nas sementes do genótipo EVF102 criopreservadas, no descongelamento em banho-maria (Figura 3). Almeida et al., (2010) também constataram que a criopreservação é uma boa alternativa para conservar sementes de mamona. Contudo, no genótipo EVF701 o comprimento total das plântulas foi maior nas sementes sem crioprotetor, independentemente do método de descongelamento.

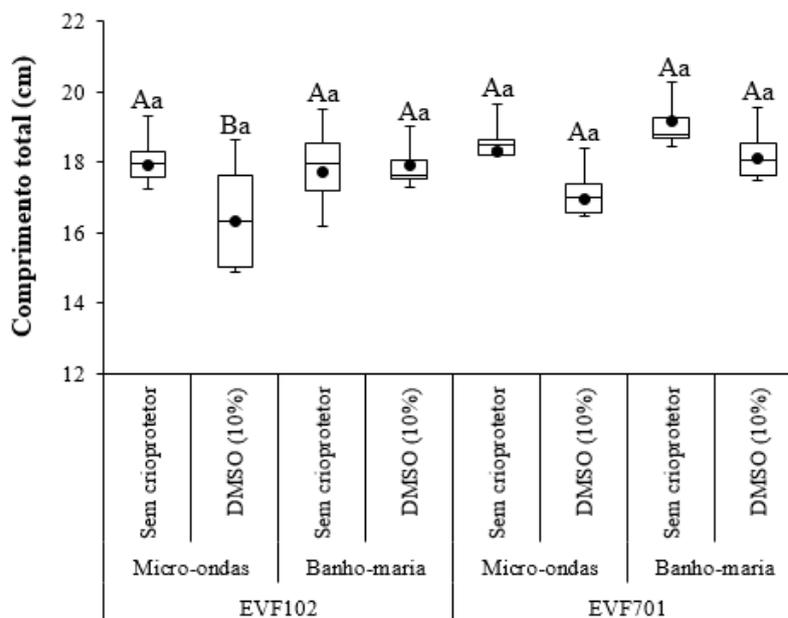


Figura 3. Box-plot do comprimento total (cm) de plântulas oriundas das sementes de dois genótipos de *Ricinus communis* L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (método de descongelamento) e minúscula (crioprotetores) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. S/CRIO - sementes sem crioprotetores; DMSO- crioprotetor dimetilsulfóxido 10%;

Os menores box-plot foram obtidos para o genótipo EVF701, e conseqüentemente menor variabilidade, e o tratamento sem crioprotetor e com descongelamento em banho-maria mostrou simetria positiva, ou seja, mediana menor que a média.

O comprimento total das plântulas de mamona do genótipo EVF701 foi semelhante nas sementes submetidas a descongelamento em micro-ondas, sendo que no descongelamento em banho-maria a ausência de crioprotetores proporcionou plântulas com maior comprimento. Por outro lado, sementes de *Allium cepa* criopreservadas não apresentam alteração quanto ao método de descongelamento (Molina, et al., 2006).

A massa seca total das plântulas de mamona do genótipo EVF102, na qual as sementes foram criopreservadas com glicerol e descongeladas em micro-ondas, foi maior que nas sementes sem crioprotetor e com DMSO (Figura 4). Isto pode ser um indicador de maior vigor das sementes, já que as plântulas que proporcionam maior massa seca são estimadas com maior vigor (Gama et al., 2010). Para o genótipo EVF701, a resposta foi similar, mas não houve diferença entre os métodos de descongelamento.

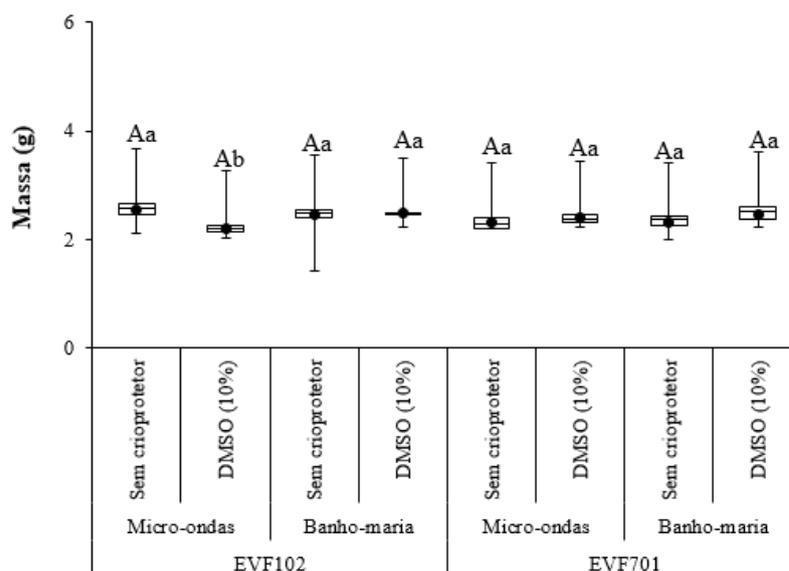


Figura 4. Box-plot da massa seca total (g) de plântulas oriundas de sementes de dois genótipos das sementes de dois genótipos de *Ricinus communis* L., mantidas em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (método de descongelamento) e minúscula (crioprotetores) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. S/CRIO - sementes sem crioprotetores; DMSO- crioprotetor dimetilsulfóxido 10%;

Os Box-plot demonstram pouca variabilidade entre os dados dos tratamentos, indicando respostas homogêneas das amostras. Com isso, as médias na maioria dos tratamentos se igualaram às medianas.

A germinação de sementes de mamona dos genótipos, após o teste de frio (Figura 5) demonstrou melhores resultados para sementes armazenadas sem crioprotetor. O mesmo ocorreu em sementes de *Encholirium spectabile* Martius ex Schultes f., que não necessitam de crioprotetores para o armazenamento em nitrogênio líquido (Ferrari et al., 2016).

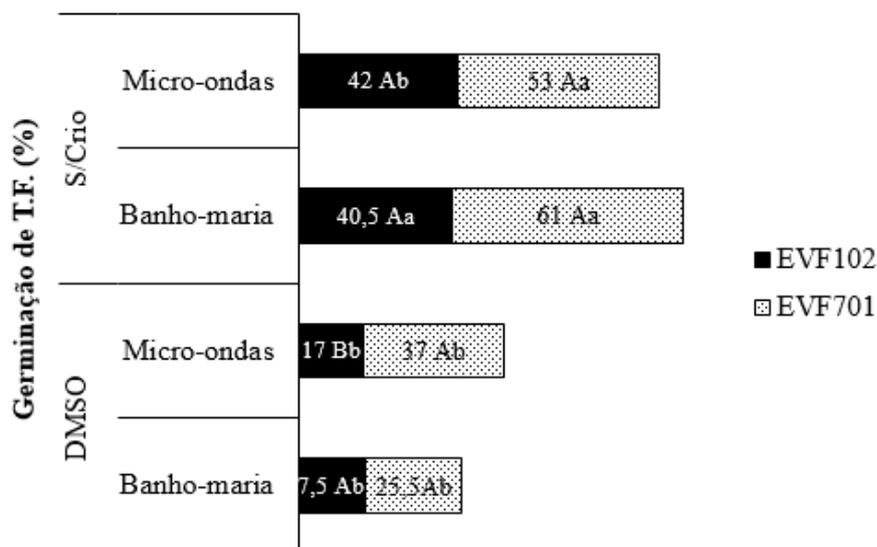


Figura 5. Box-plot do percentual de germinação de sementes das sementes de dois genótipos de *Ricinus communis* L., mantidos em criogenia com uso de diferentes crioprotetores e métodos de descongelamento.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (método de descongelamento) e minúscula (crioprotetores) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ^{ns} – não significativo. S/CRIO - sementes sem crioprotetores; DMSO- crioprotetor dimetilsulfóxido;

O método descongelamento apresentou resultado inferior aos demais apenas para o genótipo EVF701 com crioprotetor DMSO (10%) e descongelando em banho-maria, assim como para sem crioprotetor para o descongelamento em micro-ondas no mesmo genótipo.

O box-plot EVF102, com crioprotetor DMSO (10%) e descongelamento em banho-maria, obteve valores de germinação em sementes submetidas ao teste frio baixos, visto que a mediana e a média apresentaram valores similares.

As avaliações de germinação de sementes submetidas a teste de frio e condutividade elétrica, não foram significativas.

Contudo, mediante aos testes de qualidade fisiológica, a criopreservação demonstrou ser uma técnica eficiente em sementes de mamona, tal qual em sementes de *Chorisia speciosa* St. Hil (Prudente et al., 2016), não sendo necessário o uso de crioprotetor.

CONCLUSÃO

O método de descongelamento em micro-ondas comprovou ser um método eficiente, assim como a criopreservação sem o uso de crioprotetor. O uso de crioprotetor

reduz a germinação e a emergência de sementes de mamona, principalmente na criopreservação com DMSO (10%) e método de descongelamento em banho-maria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. de A. C.; JERÔNIMO, E. de S.; ALVES, N. M. C.; GOMES, J. P.; SILVA, A. S. Estudo de técnicas para o armazenamento de cinco oleaginosas em condições ambientais e criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.2, p. 189-202, 2010.

AZEVEDO, D.M.P. DE; LIMA, E.F. O agronegócio da mamona no Brasil. Brasília: **EMBRAPA Informação Tecnológica**, 2001.350p.

BATISTA, R.C. **Cultivo *in vitro* e criopreservação de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.)**. 2000. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande-PB.

BENSON, E.E. Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory and practice. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.27, n.3, p.141-219, 2008.

BELTRÃO, N. E. de M.; SILVA, L. C.; MELO, F.B. **Cultivo da Mamona (*Ricinus communis* L) consorciada com feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. walp) para o semi-árido nordestino em especial do Piauí**. Campina Grande: EMBRAPA/CNPA/ CPAMN, 2002. 44 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 97).

BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, L. C.; VASCONCELOS, O. L.; AZEVEDO, D. M. P.; VIEIRA, D. J. Fitologia. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Embrapa Serviço de Comunicação Tecnológica, 2001. p. 37-61.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009.

FERRARI, E. A. P.; COLOMBO, R. C.; de FARIA, R. T.; TAKANE, R. J. Cryopreservation of seeds of *Encholirium spectabile* Martius ex Schultes f. by the vitrification method. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 172-177, 2016.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar – análises estatísticas**. Lavras: Editora UFLA- Departamento de Ciências Exatas, 2011. 66 p.

FONSECA, A. G.; MATUDA, J. J.; ALMEIDA, J. O.; UBIRAJARA, R. N.; MACHADO, E. L. M. Qualidade fisiológica de sementes de *Pinus elliotti* Engelm. submetidas a diferentes métodos de armazenamento. **Cerne**, v.18, n.3, p. 457-463, 2012.

GAMA, J. S. N.; MONTE, D. M. de O.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. de L, AL; BRAGA JÚNIOR, J. M. Temperaturas e substratos para germinação e vigor de sementes de *Euterpe oleracea* Mart. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 4, p. 664-670, 2010.

HARDING, K. Genetic integrity of cryopreserved cells: a review. **Cryo Letters**, v. 25, n. 1, p. 3-22, 2004.

KARTHA, K.K. Meristem culture and germplasm preservation. In: Kartha, K.K. (ed.). **Cryopresevation of plant cells and organs**. Boca Raton: CRS Press, p.115-13, 1985.

LOEFFLER, N.L.; MEIER, J.L.; BURRIS, J.S. Comparison of two cold test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, v.13, n.3, p.653-658, 1985.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. FEALQ. Piracicaba, 495p, 2005.

MOLINA, T. F.; TIELMANN, M.A.A.; DOGE, L.B.; VIÉGAS, J. Crioconservação em sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.3, p. 72-81, 2006.

PRUDENTE, D. O.; NERY, F. C.; SILVA, L. S.; PAIVA, R.; REIS, M. V.; NERY, M. C. Germinação in vitro e criopreservação de sementes de paineira-rosa. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n.3, p. 272-276, 2016.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.20, p.60- 65, 2001.

SAVY FILHO, A. **Mamona: tecnologia agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105p.

SILVA, V. F.; SALES, J. F.; SILVA, F. G.; CAMPO, R. C.; BRANQUINHO, A. C.; SILVA, V. A. Cryopreservation of quina seeds (*Strychnos pseudoquina* A. St. Hil). **International Research Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 55-60, 2012.

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

CAPÍTULO III

A GERMINAÇÃO DE *Ricinus communis* L. PODE SER INFERIDA PELA ÁREA DE PREENCHIMENTOS DAS SEMENTES?

Resumo: Neste estudo, objetivou-se correlacionar a estrutura da morfologia interna de sementes de mamona com o teste de germinação, mediante o uso de teste físico e em contraste às imagens radiografadas. Foram utilizadas sementes de três genótipos de mamona (EVF 102, EVF 106 e EVF 701) colhidas manual e mecanicamente. A avaliação de imagens de raios X deu-se através do uso do software QUANT, com o desenvolvimento da plântula no teste de germinação. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 5 x 2 (genótipos x método de colheita). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste de F e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de significância, utilizando o programa Sisvar. Não foi possível correlacionar o percentual de preenchimento com o índice de germinação. O software QUANT v. 1.0. 0.22 pode ser utilizado como ferramenta para quantificar o preenchimento de sementes via imagens do teste de raios X.

Palavras-chave: Mamona, Imagens radiografadas, QUANT.

CAN GERMINATION OF *Ricinus communis* L. BE INFESTED BY THE SEED FILL AREA?

Abstract: The objective of this study was to correlate the internal morphology structure of castor bean seeds with the germination test, using a physical test and in contrast to the radiographed images. Seeds of three castor bean genotypes (EVF 102, EVF 106 and EVF

701) were harvested manually and mechanically. The evaluation of X-ray images occurred through the use of QUANT software, with seedling development of the seedling in the germination test. The experimental design was completely randomized, in a factorial arrangement 5 x 2 (genotypes x harvest method). Data were submitted to analysis of variance by the F test and the means compared by the Scott-Knott test, at 5% significance, using the SISVARr program. It was not possible to correlate the percentage of filling with the germination index. The QUANT v. 1.0. 0.22 can be used as a tool to quantify the seeds filling by X-ray test images.

Key words: Castor, X-ray images, QUANT.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mamona (*Ricinus communis* L.) e o segundo exportador do óleo obtido das sementes (Savy Filho, 2005). Em nível nacional, a produção dessa oleaginosa concentra-se na região Nordeste com destaque para o Estado da Bahia (Conab,2018).

Para a produção comercial de mamona, é indispensável o uso de sementes de elevada qualidade, uma vez que baixas produtividades comumente estão relacionadas à utilização de lotes de sementes de baixa germinação, reduzido vigor e alta contaminação por patógenos (Azevedo e Beltrão, 2007).

A redução dos valores da esfericidade e circularidade dos frutos de mamona é desencadeada pela redução no teor de água (Goneli et al., 2011) e, desta forma, faz-se necessário a determinação do grau de umidade para a classificação do lote a ser comercializado. Em adição, os testes de envelhecimento acelerado e de frio são eficientes para avaliar o vigor de sementes de mamona (Mendes et al., 2010). Concomitantemente a esses testes, o teste de raio-X pode ser oportuno para avaliar a qualidade da morfologia interna de sementes de mamona e seus efeitos no potencial fisiológico (Kabori et al, 2012).

Uma das variações morfológicas associadas ao desempenho das sementes é o tamanho do embrião, ou seja, seu grau de desenvolvimento em relação ao espaço disponível na cavidade interna da semente, estimado em uma proporção expressa em porcentagem. Essa característica foi avaliada por meio de análise de imagem em sementes radiografadas (Machado e Cicero, 2003; Pupim et al., 2008; Otoni et al., 2005), procurando associar os resultados à germinação e vigor.

O teste de raio X é um método simples, rápido e não destrutivo que tem como objetivo detectar sementes vazias e/ou cheias e presença de danos internos ocasionados

por insetos ou danos mecânicos. Essas informações podem ajudar a seleção de lotes em programas de controle da qualidade e, por conseguinte, aumentar a eficácia do sistema de produção (ISTA, 2004).

O objetivou-se avaliar a relação entre a estrutura morfológica de sementes de mamona e índices de germinação, utilizando-se de teste físico, em contraste a imagens radiografadas das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Utilizou-se sementes de 5 genótipos de mamona (EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716), produzidas em campos de produção de sementes. Os frutos foram colhidos mecanicamente e manualmente com 6,0% (b.u.) (Brasil, 2009).

As sementes de cada genótipo foram enviadas para o Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, para a obtenção das imagens de raios X. As sementes foram dispostas em suportes de acrílico, com fita dupla face, e expostas a intensidade de radiação 32 KV, em aparelho de raios X, Faxitron MX-20, durante 26 segundos. Essa intensidade e tempo foi escolhida por apresentar melhores resultados em testes preliminares com a mesma espécie. Os testes de raios X foram conduzidos com 100 sementes de 5 genótipos colhidos de 2 formas (manual e mecânica). As sementes foram identificadas individualmente, e suas respectivas imagens, juntamente com as sementes radiografadas, enviadas ao Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, para o teste de germinação.

O teste de germinação foi realizado com 4 repetições de 25 sementes, por genótipo, em delineamento inteiramente ao acaso. As sementes foram distribuídas, individualmente, sobre duas folhas de papel “germitest”, umedecidos com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. As avaliações de germinação foram feitas aos 7 e aos 14 dias (Brasil, 2009). As sementes e o papel foram identificados, individualmente, para a análise e comparação das plântulas e imagens.

As imagens foram analisadas com o auxílio software QUANT (Fernandes Filho et al., 2002), para se obtenção da porcentagem de espaços preenchidos e vazios em cada semente. Posteriormente, cada imagem foi classificada conforme as categorias: 1- germinadas e 2- mortas.

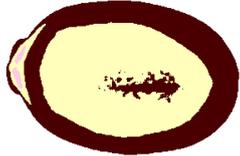
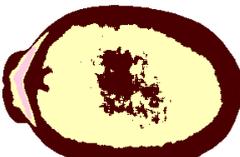
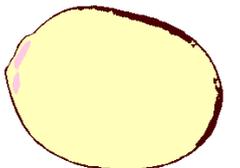
O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 5 x 2 (genótipos x método de colheita). Os dados foram submetidos à análise de variância

pelo Teste de F e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de significância, utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2011). Adicionalmente, foram gerados os gráficos de caixa (box-plot), visando a diferença das médias dos tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, constatou-se que o software QUANT pode ser utilizado para quantificar e determinar os valores de área preenchida e vazia das imagens obtidas no teste de raios-X para sementes de mamona. Contudo, os níveis de preenchimento não se mostraram significativamente correlacionados com os resultados observados no teste de germinação (Figura 1). Resultado semelhante foi reportado para sementes de algodão (Lopes Filho, 2017).

Após o teste de germinação, foram obtidas sementes mortas e germinadas com o percentual de preenchimento similares. Esses resultados comprovam a ausência de relação entre o nível de preenchimento observado em imagens radiográficas e os índices germinação das sementes de mamona.

IMAGEM RADIOGRAFADA	IMAGEM QUANT	14 DAS	% DE PREENCHIMENTO
			Semente Morta 53,36% de preenchimento
			Semente Germinada 52,34% de preenchimento
			Semente Morta 91,97% de preenchimento

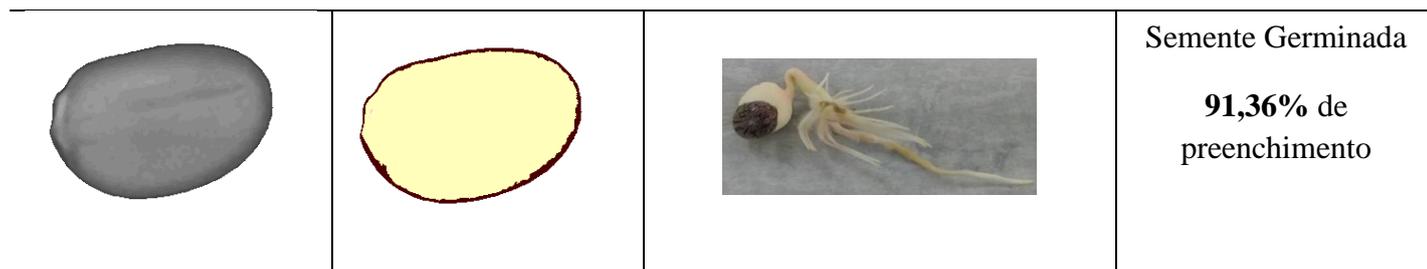


Figura 1 – Imagens das sementes de genótipos de mamona submetidas ao teste de raios-X, processadas pelo software QUANT, submetidas ao teste de germinação (14 dias) e percentual de preenchimento das sementes.

A figura 2 demonstra a grande variabilidade nos dados de germinação para cada genótipo e método de colheita. Os genótipos que apresentaram melhores percentuais de germinação foram o EVF102, EVF106 e EVF701, independentemente do método de colheita. Ressalta-se que o método de colheita mecânica proporciona germinação maior que 92%.

Corroborando a heterogeneidade da germinação das sementes entre os genótipos observada neste estudo, Mengarda et al. (2015) reportam que podem haver diferenças de qualidade fisiológica entre genótipos de mamona, devido a alguma característica particular destes.

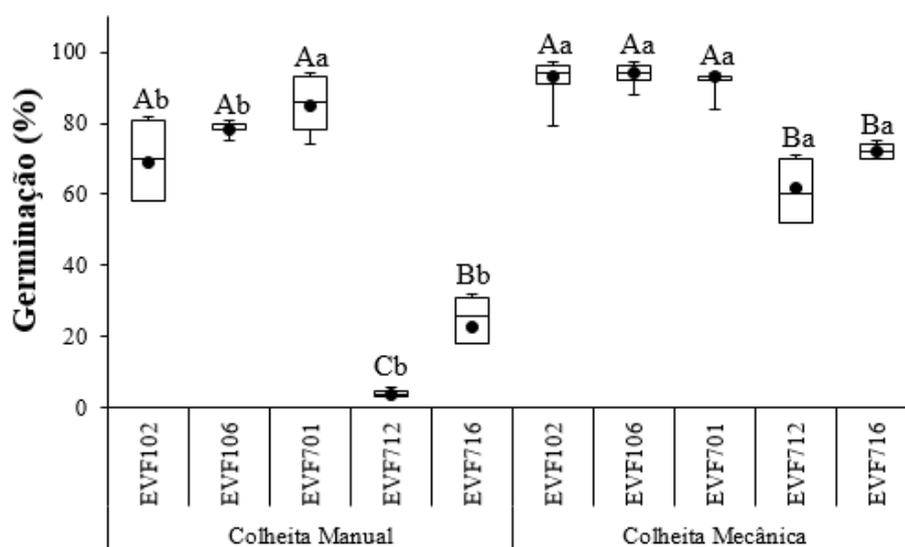


Figura 2 – Box-plot do Percentual de germinação de sementes de cinco genótipos de mamona, sob diferentes métodos colheitas e submetidas ao teste de raios-X

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (genótipos) e minúscula (método de colheita) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knoot a 5% de significância.

O percentual de preenchimento das sementes apresentou homogeneidade nos dados, no qual as medianas e as médias se assemelharam na maioria dos tratamentos (Figura 3). No método de colheita manual, o genótipo EVF102 apresentou os maiores percentuais de preenchimento e germinação, ao passo que, para o genótipo EVF701, o método de colheita manual foi o mais promissor. Esses dados corroboram com os encontrados por Gomes Júnior (2010), pois sementes que apresentam volume interno ocupado pelo endosperma mais o embrião maior suscitam plântulas de qualidade superior.

O genótipo EVF 106 apresentam boa germinação, independentemente do método de colheita. Embora o preenchimento tenha ficado abaixo de 71,5%, isso não interferiu na germinação, conforme visto na Figura 1. Semelhante ao observado neste estudo, Rocha et al., (2014) reportaram que nem sempre as sementes de girassol em que o embrião e endosperma tomavam maior área apresentam maior percentual de plantas normais obtidas na germinação.

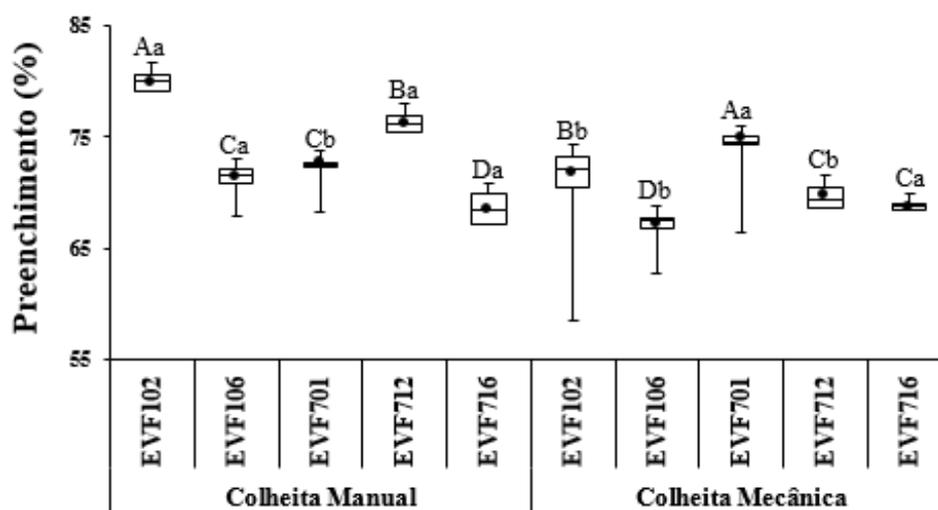


Figura 3 – Box-plot do Percentual de preenchimento de sementes de cinco genótipos de mamona sob diferentes métodos colheitas e submetidas ao teste de raios-X

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (genótipos) e minúscula (método de colheita) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knoot a 5% de significância.

A análise radiográfica permitiu concluir que as sementes parcialmente cheias, visualizadas pelo teste de raios X, apresentaram boa germinação, dando robustez na eficiência deste método para a classificação de lotes de mamona.

CONCLUSÃO

Não foi possível correlacionar o percentual de preenchimento com o índice de germinação.

O software QUANT v. 1.0. 0.22 pode ser utilizado como ferramenta para quantificar o preenchimento de sementes via imagens do teste de raios X.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, D.M.P.; BELTRÃO, N.E.M. **O agronegócio da mamona no Brasil**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2007. 504p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Mamona Brasil: Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras 1976/77 a 2015/16 de Grãos, 2001 a 2016 de Café, 2005/06 a 2016/17 de Cana-de-Açúcar**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 10 de fevereiro. 2018.

FERNANDES FILHO, E. I.; F. X. R. VALE; L. ZAMBOLIM; J. R. LIBERATO. Software QUANT v.1.0.0.22 – Quantificação de Doenças de Plantas. Universidade Federal de Viçosa, **CD-ROM**, 2002.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar** – análises estatísticas. Lavras: Editora UFLA-Departamento de Ciências Exatas, 2011. 66 p.

GOMES JUNIOR, F. G. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo ABRATES**, v.20, n.3, p.33-51, 2010.

GONELI, A. L. D.; CORRÊA, O. C.; MAGALHÃES, F.E.A.; BAPTESTINI, F. M. Contração volumétrica e forma dos frutos de mamona durante a secagem. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 1-8, 2011.

ISTA. **International rules for seed testing association**. Zurich, 174p. 2004.

KOBORI, N.N.; CICERO, S. M.; MEDINA, P.F. Teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 34, nº 1 p. 125 - 133, 2012

LOPES FILHO, L.C. **Qualidade física e fisiológica, análise de imagens de raios x e armazenamento de sementes de algodão**.2017. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias - Agronomia), Instituto Federal Goiano, Rio Verde-GO.

MACHADO, C.F.; CÍCERO, S.M. Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. - Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.393-397, 2003.

MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA; M. D.; DIAS, L. A. S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciência e agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 114-120, 2010.

MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C.; ZANOTTI, R. F.; ALEXANDRE, R. S. Desempenho de genótipos de mamoeiro quanto à qualidade física e fisiológica de sementes e análises de diversidade. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 719-729, 2015.

OTONI, R.R.; McDONALD, M.B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Technology**, v.27, n.2, p.243-247, 2005.

PUPIM, T.L.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CARVALHO, M.L.M.; CÍCERO, S.M. Adequação do teste de raios-X para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.28-32, 2008.

ROCHA, C. R. M.; SILVA, V. N.; CÍCERO, S. M. Internal morphology and germination of sunflower seeds. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 48-53, 2014.

SAVY FILHO, A. **Mamona: tecnologia agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105p.

CONCLUSÃO GERAL

- Os caracteres emergência, germinação, comprimento e massa seca de plântulas e total de frutos por racemo são os principais determinantes na quantificação da divergência genética entre os genótipos de mamona.
- As divergências genéticas entre os genótipos estudados de mamona, resultam em caracteres morfológicos e fisiológicos, que promovem a formação clusters genéticos diferentes, sendo o genótipo EVF712 maior distância.
- O método de descongelamento em micro-ondas comprovou ser um método eficiente, assim como a criopreservação sem o uso de crioprotetor. O uso de crioprotetor reduz a germinação e a emergência de sementes de mamona, principalmente na criopreservação com DMSO (10%) e método de descongelamento em banho-maria.
- Não foi possível correlacionar o percentual de preenchimento com o índice de germinação. O software QUANT v. 1.0. 0.22 pode ser utilizado como ferramenta para quantificar o preenchimento de sementes via imagens do teste de raios X.

ANEXOS



Figura 1. Plantas de seis genótipos de *Ricinus communis* L., utilizados nos experimentos, em sequência: EVF102, EVF106, EVF701, EVF712 e EVF716.