



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DARCY RIBEIRO

ANA PAULA FERREIRA PINHEIRO

EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM OZÔNIO NA
CULTURA DO MILHO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (GRADUAÇÃO)

BRASÍLIA/DF
JULHO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DARCY RIBEIRO

**EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM OZÔNIO NA
CULTURA DO MILHO**

ANA PAULA FERREIRA PINHEIRO

ORIENTADORA: NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA
COORIENTADOR: CHRISTIAN VITERBO MAXIMIANO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
SUBMETIDO À FACULDADE DE AGRONOMIA
E MEDICINA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO
DO GRAU DE ENGENHEIRA AGRÔNOMA.

BRASÍLIA/DF
JULHO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DARCY RIBEIRO

**EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM OZÔNIO NA
CULTURA DO MILHO**

ANA PAULA FERREIRA PINHEIRO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO SUBMETIDO À FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE ENGENHEIRA AGRÔNOMA.

APROVADA POR:

NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA, DSc (UnB – FAV), Email: narasouza@unb.br
(ORIENTADORA)

CHRISTIAN VITERBO MAXIMIANO, (UnB – FAV), Email: christianviter@hotmail.com
(EXAMINADOR)

FLÍVIA FERNANDES DE JESUS SOUZA, (UnB – FAV), Email: fliviafdejesus@gmail.com
(EXAMINADORA)

BRASÍLIA/DF, 06 DE JULHO DE 2016.

FICHA CATALOGRÁFICA

Pinheiro Ana Paula Ferreira

Efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho./Ana Paula Ferreira Pinheiro; orientação de Nara Oliveira Silva Souza – Brasília, 2016.

42p.

Trabalho de Conclusão de Curso Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PINHEIRO. AP. F. **Efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho**. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2016, 42p.

CESSÃO DE CRÉDITOS

NOME DO AUTOR: Ana Paula Ferreira Pinheiro

TÍTULO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (GRADUAÇÃO): Efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos.

Ana Paula Ferreira Pinheiro

CPF: 111.975.066-08

E-mail: anapaula.pinheiro@hotmail.com

Se Deus disse que eu posso, então eu posso.

Irei e não temerei mal algum

Filipenses 4:13.

DEDICO

À Deus, é nele que encontro toda minha fé, foco e determinação. É minha maior e principal fonte de paz, meu anseio, minha esperança, é quem tranquiliza os mares mais agitados e agoniados do meu coração. É com ele que busco forças quando não acredito mais em mim, é ele minha inesgotável fonte de luz, o combustível dos meus sonhos. Sem ele, não sou nada.

À Terezinha Almeida de Jesus, minha amada tia-mãe, que sempre esteve comigo iluminando meu caminho, se esforçando pela minha vida, lutando pelos meus sonhos, me ensinando sobre o amor, batalhando ao meu lado, apoiando minhas decisões, buscando meus sorrisos. É com ela que encontro conforto, que minha alma descansa no seu amor, que tenho confiança, força, que busco conselhos e muitas vezes a minha paz. Há ela, todo meu agradecimento e meu mais profundo e sincero amor.

À minha avó Elizabethe Almeida dos Santos, por ter me proporcionado e incentivado a oportunidade de cursar Agronomia na Universidade de Brasília, sem ela, esse sonho certamente não teria sido possível. Todo meu profundo agradecimento pelo apoio e força proporcionada durante um longo período.

À minha bisavó Maria Almeida dos Santos, um pilar de todo amor existente dentro do meu coração; base da minha criação e dos meus valores. Sua casa era meu recanto de alívio, meu cantinho intocável, meu conforto certo. Foi minha leal amiga, confidente, companheira, quem cuidava para que minha alma se sentisse protegida e acima de tudo aquela que sempre me recebia de braços abertos, cheia de carinho e saudade, cheia de vontade de me ver feliz.

Aos meus pais Fabiana Aparecida Pinheiro e Altamir Vicente Ferreira Júnior, por acima de tudo ter me dado a vida, pelas conversas e atitudes de apoio, preocupações, por terem me proporcionado uma base educacional para que eu conseguisse uma vaga em uma universidade federal.

Ao meu namorado Paulo Vinícius Gontijo Miranda, meu companheiro desde o primeiro semestre de graduação, maior e melhor amigo, uma pessoa maravilhosa que sempre esteve disposto a me ajudar no que fosse necessário. Me completa, me apoia, me ensina. Sou muito grata pela força incondicional que me forneceu, pela paciência, proteção, amor, generosidade, conforto e bom humor. Ao seu lado me sinto forte, capaz; sem dúvida sem ele, provavelmente eu não teria conseguido vencer os meus piores e mais dolorosos obstáculos.

AGRADEÇO

Aos meus familiares, pessoas que sempre estiveram ao meu lado, juntos nessa longa caminhada, ajudando sempre como podiam e torcendo sempre pelo meu sucesso.

À professora Nara, primeiramente por sua educação, que me fazia admirá-la e respeitá-la cada vez mais. Por toda paciência e ajuda prestada durante esses anos, pelas palavras sinceras que sempre iluminavam minhas incertezas profissionais. Sempre serei grata e guardarei um grande carinho.

Ao Coorientador Christian, que me auxiliou muito durante todo percurso da Monografia, me fornecendo todo suporte necessário para o que fosse preciso. Agradeço por sua atenção, por suas orientações, por sua paciência e dedicação em me ajudar. Obrigada por tudo.

A todos os professores da Agronomia, por durante esses anos despertarem em mim grande entusiasmo profissional, me fazerem crescer muito e por sempre se esforçarem para nos fornecer grandes e verdadeiras informações sobre todo cenário brasileiro.

Aos meus amigos de curso, que batalharam dia após dia ao meu lado, lutando e vencendo juntos barreiras muitas vezes bastante complicadas. Amigos e momentos que sempre levarei na memória e dentro do coração. Muito obrigada pela força, pelas conquistas, pelos sorrisos e abraços, e claro pelas inúmeras companhias; vocês tornavam os dias mais tranquilos e agradáveis.

ÍNDICE

1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A cultura do milho.....	3
2.2 Cenário do milho.....	4
2.3 Semente de milho.....	5
2.4 Qualidade Fisiológica da semente.....	6
2.4.1 Fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e micotoxinas.....	7
2.5 Uso do gás ozônio.....	9
2.5.1 Uso do gás ozônio em água.....	11
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Semente utilizada.....	13
3.2 Análises laboratoriais.....	13
3.2.1 Exposição das sementes ao gás ozônio.....	13
3.2.2 Teste padrão de germinação (TPG).....	14
3.2.3 Teste de condutividade elétrica.....	14
3.3 Análises de campo.....	15
3.3.1 Emergência de plântulas e campo (EC).....	15
3.3.2 Altura da planta.....	15
3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5. CONCLUSÕES.....	23
6. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Resumo da análise de variância dos testes realizados em campo e em laboratório em sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.....	16
Tabela 2. Valores médios obtidos no teste de condutividade elétrica em sementes de milho considerando a condição de exposição da semente. UnB, Brasília-DF, 2016.....	17
Tabela 3. Valores médios obtidos no teste padrão de germinação e na altura de plantas, considerando o fator período de exposição, em sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.....	18
Tabela 4. Valores médios dos testes de qualidade fisiológica relacionados à interação entre os fatores condição e período de exposição das sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.....	20
Tabela 5. Médias obtidas no teste de condutividade elétrica (CE) em sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.....	21

RESUMO

A utilização do gás ozônio no tratamento de grãos para controle de fungos vem-se mostrando como uma técnica promissora. Uma possível alternativa para o seu uso em sementes vem sendo pesquisada. Contudo é necessário verificar se essa técnica não afeta a qualidade fisiológica das sementes. Com isso, o objetivo desse estudo foi verificar o efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho. Ou seja, se a água ozonizada afeta a qualidade fisiológica das sementes e o seu efeito no desenvolvimento da cultura do milho. Sementes de milho da variedade 30F53 foram submetidas a duas condições de exposição, água borbulhada sem ozônio e água borbulhada com ozônio na concentração de 10 mg L⁻¹. Foram adotados quatro períodos de exposição, 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 horas, compondo um fatorial duplo, 2 x 4, ou seja, duas condições e quatro períodos de exposição. Sementes sem nenhum tratamento foi considerada como testemunha. As sementes foram avaliadas com os seguintes testes: germinação e condutividade elétrica (laboratório), emergência em campo e altura de plantas (campo). O delineamento estatístico adotado nas análises de laboratório foi o inteiramente casualizado e em campo, blocos casualizados. Observou-se que a condição de exposição das sementes em água borbulhada sem ozônio foi a que proporcionou melhores resultados de germinação e menores valores de condutividade elétrica. Com relação aos períodos, observou-se que com o aumento do tempo de exposição, aumentou a germinação e reduziu a quantidade de lixiviados na água de embebição no teste de condutividade elétrica, permitindo inferir que houve um efeito positivo de condicionamento osmótico das sementes. Com relação aos dados do desenvolvimento da cultura do milho em campo, não foi possível evidenciar diferenças entre os tratamentos.

Palavras-Chave: Ozonização, *Zea mays* L., qualidade fisiológica

1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das poáceas mais cultivadas no mundo. Produz grãos de alto valor nutritivo sendo extremamente empregado e importante na alimentação humana e animal (MARCHI, 2008). O mercado cada vez mais exige que os sistemas de produção de sementes de milho, forneça um produto final de alto valor agregado e elevada qualidade.

A qualidade da semente pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de originar plantas com maior produtividade. A alta qualidade da semente reflete diretamente no resultado final da cultura, em termos de ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas, da maior produtividade e de uniformidade da população (POPINIGIS, 1977; BRACCINI et al., 1999; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012.).

A qualidade sanitária das sementes é de fundamental importância, pois sementes contaminadas podem reduzir a população de plantas e a produtividade e, também, servir como veículo de disseminação de patógenos (ANDRADE; BORBA, 1993; CASA et al., 1998). Muitos fungos veiculados pela semente de milho podem ser transmitidos às plântulas (McGEE, 1988). Analisando a sanidade de dezenas de lotes de sementes de milho, CASA, 2004 observou que os fungos de maior frequência (acima de 90%) foram *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.

As medidas de controle de doenças causadas por fungos associados às sementes de milho são baseadas no uso de sementes sadias e no tratamento de sementes com fungicidas (REIS et al., 2004; PEREIRA et al., 2005).

Uma alternativa recente que vem sendo apresentada como um potencial controlador de fungos em sementes é um uso do gás ozônio. O seu uso no controle de fungos em grãos ou sementes já foi verificado em diversos trabalhos (HSIEH et al., 1998; CICCARESE et al., 2007; ABDEL-WAHHAB et al., 2011; EL-DESOUKY et al 2012; MARIQUE et al., 2012; BEBER-RODRIGUES, 2013; SAHAB et al., 2013, LUO et al., 2014; SAVI et al., 2014). Resta saber se o seu efeito não afeta a qualidade fisiológica das sementes e o desenvolvimento da cultura.

O ozônio (O₃) é um poderoso agente oxidante que pode ser gerado no local, através de um processo de descarga elétrica (KIM et al.,1999); desta forma, sua utilização se torna atraente no controle de insetos e fungos em grãos armazenados, pelo fato de descartar a necessidade de manipulação, armazenamento ou eliminação dos recipientes de produtos químicos e, ainda, em virtude de possuir uma meia vida curta e de seu produto de degradação ser o oxigênio (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003).

Trabalhos realizados com trigo, envolvendo aplicação de gás ozônio em mistura com ar atmosférico ou com oxigênio puro (WU et al., 2006), em fumigação ou aplicado à água, em processo de lavagem dos grãos (IBANOGLU, 2002), puderam demonstrar eficiência na desinfestação fúngica e bacteriana deste cereal, sem promover alterações significativas em sua composição bioquímica, no rendimento da farinha procedente dos grãos ozonizados, assim como de sua qualidade nutricional (IBANOGLU, 2001, 2002; MENDEZ et al., 2003).

A tecnologia de utilização do ozônio, como agente sanitizante, apresenta diversas vantagens em relação aos demais procedimentos alternativos, a começar pela possibilidade de ser gerado no próprio local de atuação, além de ser considerado um dos mais efetivos agentes oxidantes. Sua decomposição ocorre rapidamente em oxigênio, deixando o ambiente livre de qualquer resíduo tóxico, em poucos minutos. Com relação ao seu efeito desinfetante, possui ação mais rápida e mais eficaz que outros produtos com a mesma função (RICE et al., 1982; XU, 1999; IBANOGLU, 2002; YOUNG & SETLOW, 2004).

O objetivo desse estudo foi verificar o efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho. Ou seja, se a água ozonizada afeta a qualidade fisiológica das sementes e o seu efeito no desenvolvimento da cultura do milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) destaca-se como uma das culturas de maior importância em escala mundial sendo que, entre os cereais, ele ocupa a terceira posição, somente é ultrapassado pelo arroz e pelo trigo (FAGERIA, 1989).

A espiga mais antiga de milho foi encontrada no vale do Tehucan em 7000 a.C, onde atualmente se localiza o México. O milho é uma das espécies da família das gramíneas e praticamente é plantado em todo o mundo, pois suas altitudes vão desde o nível do mar até três mil metros. Destaca-se como uma das culturas de maior antiguidade. Serviu de alimentação básica para diversas civilizações como, por exemplo, os Maias, Astecas e Incas, os quais reverenciavam o cereal em sua arte e religião (LERAYER; MARQUES, 2006).

O milho é uma monocotiledônea, da família Poaceae, subfamília Panicoidae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L (SILOTO, 2002). É uma planta herbácea, monóica, portanto possuem os dois sexos na mesma planta em inflorescências diferentes (PONS; BRESOLIN, 1981).

Segundo Coelho e França (1995), o milho é considerado uma planta de dia curto, ou seja, floresce quando a duração da noite (período sem luz) é maior ou igual que o fotoperíodo crítico, não obstante, algumas cultivares podem não sofrer efeito dessa variação da duração do dia. A temperatura ideal para o desenvolvimento do milho, da emergência à floração, varia de 23°C a 30°C.

Com o passar dos anos, a evolução desta cultura foi através da seleção visual no campo, sempre levando em considerações características importantes tais como resistência a doenças, produtividade e capacidade de adaptação (LERAYER; MARQUES, 2006).

O milho é uma cultura praticamente cosmopolita, esse é um dos fatores que explicam o seu sucesso em termos de produção, pois apresenta fácil adaptação a diversas regiões, sendo possível alcançar safras de sucesso da coordenada 58° norte (União Soviética) até 40° sul (Argentina) e em altitudes que variam do nível do mar a 4.000m (MAGALHÃES et al., 1995; EMBRAPA, 1996).

2.2 Cenário do milho

O milho carrega uma importância econômica muito grande; se destaca como sendo uma das plantas de maior eficiência comercialmente.

Sua produção tem crescido ano após ano, dentre vários motivos um deles é devido ao aumento das atividades de avicultura e suinocultura, onde o milho pode ser consumido diretamente ou ser utilizado na fabricação de rações. Sua demanda portanto, é só crescente, tanto na alimentação humana quanto alimentação animal. (MARCHI, 2008).

Os maiores produtores de milho são os Estados Unidos, a China e o Brasil. O Brasil ocupa uma posição de destaque como produtor, consumidor e exportador (BRASIL, 2013)

Atualmente o maior importador de milho é o Japão, com expectativa de 15 milhões de toneladas importadas na safra 2015/16, onde devido às condições de relevo e clima, impossibilitam a produção deste cereal no país, tendo que importar todo milho consumido (USDA, 2015).

O mercado de exportação de milho é praticamente dominado por quatro países: EUA, Brasil, Ucrânia e Argentina. Estes países representaram 83,28% das exportações mundiais na safra 2015/16. A Ucrânia e a Argentina destinam mais de 60% da sua produção para o mercado externo, demonstrando assim grande dependência das exportações para escoarem seu milho (USDA, 2015).

O Brasil possui uma alta diversidade em termos de sistemas de produção considerados, ocorrendo desde propriedades com plantios de subsistência que utilizam técnicas rudimentares, até propriedades altamente tecnificadas, que visam à exploração comercial da produção (MONTEIRO et al., 1996).

Na maior parte do território nacional, a safra principal (safra “verão”) é plantada em setembro/outubro, ocorrendo a colheita em dezembro/janeiro. Após a cultura de verão (entre janeiro e abril), em algumas regiões do país é plantado o milho de sequeiro, denominado milho “safrinha” (SANS; GUIMARÃES, 2009).

Apesar da produção de milho ocorrer em praticamente todos os municípios brasileiros, existem áreas de maior concentração da atividade, situadas, na sua maioria, entre os paralelos 10 e 30° Sul. Nas regiões Sul e Sudeste predominam o plantio da safra de verão, e na região Centro-Oeste, o plantio de milho na época de safrinha (SANS; GUIMARÃES, 2009).

A comercialização é bastante difundida, apresentando fluxos de comercialização direcionados para fábricas de rações, indústrias químicas, mercado de consumo in natura e exportações (OLIVEIRA; DUARTE, 2008). O milho está entre as culturas que mais disponibilizam produtos industrializados no mercado.

Avanços na tecnologia contribuem muito para o aumento na produção, com vantagens como antecipação da colheita, utilização de um sistema de armazenagem mais simples e viável, diminuindo perdas no campo, conservando o valor nutricional por um maior período de tempo e com isso possibilitando ao produtor um maior retorno econômico (REIS et al., 2001). Em pequenas propriedades, destinam-se seus produtos ao comércio por meio de sacas e por varejo, na base de espigas. Já em grandes propriedades, a comercialização é feita por atacado (REIS et al., 2001).

A cultura do milho no Brasil é de extrema importância para o agronegócio nacional, pois além de ser base de sustentação para pequena propriedade, constitui um dos principais insumos no complexo agroindustrial brasileiro.

2.3 Sementes de milho

A semente do milho que é classificada botanicamente como cariopse, apresenta três partes: o pericarpo, o endosperma e o embrião. O pericarpo é uma camada fina e resistente, constituindo a parte mais externa da semente. O endosperma é a parte da semente que está envolvida pelo pericarpo e a que apresenta maior volume, sendo constituída por amido e outros carboidratos. À parte mais externa do endosperma e que está em contato com o pericarpo, denomina-se de camada de aleurona, a qual é rica em proteínas e enzimas e cujo papel no processo de germinação, é determinante. O embrião, que se encontra ao lado do endosperma, possui primórdios de todos os órgãos da planta desenvolvida, ou seja, não é mais do que a própria planta em miniatura (JOSÉ F. C. BARROS e JOSÉ G. CALADO, 2014).

Na cultura do milho, o uso de sementes de boa qualidade é essencial para obter um plantio eficiente com uma alta produtividade final.

A maior parte da semente é constituída pelo endosperma onde se encontram depositados as reservas. O embrião encontra-se ao lado do endosperma, possuindo em uma extremidade a plúmula, com quatro a cinco folhas já diferenciadas e recobertas pelo coleóptilo e, na extremidade, a radícula. O embrião é protegido por um apêndice em forma de escudo denominado escutelo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Durante a germinação, o crescimento do embrião se inicia pelo ponto vegetativo da raiz, primeira estrutura a ser exposta da semente, seguindo das raízes seminais emergida do nó cotiledonar. A seguir, desenvolvem-se raízes secundárias laterais, constituindo o sistema radicular primário em forma de cone, responsável pela nutrição da plântula (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

Sementes de milho não apresentam qualquer grau de dormência, germinando após atingirem a maturidade fisiológica, se tiverem à disposição umidade e temperaturas adequadas. Como suas sementes não se desprendem espontaneamente da espiga, em condições naturais germinam formando um aglomerado de plântulas, onde é grande a concorrência (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

2.4 Qualidade fisiológica da semente

A avaliação de qualidade fisiológica das sementes é realizada em laboratórios, principalmente pelo teste de germinação; no entanto, este é conduzido em condições favoráveis de temperatura, umidade e de luz, permitindo ao lote expressar o seu potencial máximo, sendo, portanto, pouco eficiente para indicar o desempenho no campo, onde as condições ambientais nem sempre são ideais (MARCOS FILHO, 1999).

A qualidade fisiológica das sementes é influenciada pelas características genéticas herdadas de seus progenitores, além da germinação e vigor, sendo estes fatores afetados pelas condições ambientais, métodos de colheita, secagem, processamento, tratamento, armazenamento e embalagem (ANDRADE et al., 2001).

A qualidade fisiológica da semente é avaliada por duas características fundamentais: germinação e vigor (POPINIGIS, 1977).

Segundo Carvalho & Nakagawa (2012), as sementes de maior tamanho ou aquelas que apresentam maior densidade, são aquelas que possuem embriões bem formados e com maiores quantidades de reservas, sendo assim potencialmente as mais vigorosas.

Sementes que têm um bom desempenho são classificadas como vigorosas e as de baixo desempenho são chamadas de sementes de baixo vigor. A “Association of Official Seed Analysts” (AOSA, 1983) definiu o vigor de sementes como aquelas propriedades que determinam o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais, sob uma ampla faixa de condições ambientais.

A queda do vigor precede à da germinação, de modo que lotes com germinação semelhante podem diferir quanto ao nível de deterioração e, portanto, ao vigor e ao potencial de desempenho em campo e armazenamento (MARCOS FILHO, 1999).

A utilização de sementes que apresentem um elevado potencial fisiológico (vigor e germinação) traz vários benefícios para o agricultor, como uma melhor germinação do lote, sendo esta rápida e uniforme, plântulas que suportam uma gama variada de adversidades ambientais, tais como, estresses hídricos e apresenta uma maturidade mais uniforme da colheita, o que traz um enorme benefício por ocasião da colheita, evitando que se realize uma colheita desuniforme (MARCOS FILHO, 1999).

Cada vez mais os consumidores exigem melhor qualidade dos produtos comercializados sendo necessários sementes sempre vigorosas, livres de patógenos, e que renda alta produtividade ao produtor.

2.4.1 Fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e micotoxinas

Segundo Scussel (2002), os fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e produção de micotoxinas são classificados em três categorias: físicos, químicos e biológicos, sendo que estes estão relacionados às condições do próprio grão e do ambiente que o envolve. Os mais importantes compreendem: conteúdo de umidade, umidade relativa (UR),

temperatura, linhagem do fungo contaminante e competição microbiana. Também o período de armazenagem, impurezas (restos da planta, poeira, casca e pedaços de grãos), insetos e ácaros (danos), condições dos grãos (grãos com danos mecânicos e/ou visualmente alterados), fungicidas, composição do substrato, variedades resistentes e o grau de contaminação podem interferir na proliferação de fungos e na formação das micotoxinas.

Os principais fungos que infestam ou infectam as sementes de milho são *Colletotrichum graminicola*, *Stenocarpella maydis*, *Stenocarpella macrospora*, *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides*, sendo associados à semente e transmitidos à plântulas (REIS et al., 1995; PINTO, 1996; REIS & CASA, 1996; CASA et al., 2004a). Destes, o fungo *Fusarium verticillioides* é o patógeno mais detectado e disseminado nas sementes de milho no Brasil, sendo o mais estudado em relação à transmissão para plântulas e para a planta adulta (SARTORI et al., 2004; FOLEY, 1962; MUNKVOLD et al., 1997). Este patógeno causa podridões radiculares, podridões da base do colmo e da espiga (DJAKAMIHARGJA et al., 1970; BALMER, 1980).

As sementes representam o principal meio de disseminação dos patógenos, podendo ser levadas a longas distâncias (lavouras, municípios, estados, países, continentes) devido à comercialização, além de favorecer a introdução em lavouras de primeiro ano de cultivo e em áreas de rotação de culturas (REIS & CASA, 2007). A associação dos patógenos às sementes garante o acesso direto do patógeno a fonte nutricional por ocasião da germinação e emergência. Os fungos associados à semente podem deteriorar a semente interferindo na população de plantas e também serem transmitidos da semente à plântula ou planta jovem colonizando órgãos radiculares e aéreos (McGEE, 1988; CASA et al., 2006).

As medidas de controle de doenças causadas por fungos associados às sementes de milho são baseadas no uso de sementes sadias e no tratamento de sementes com fungicidas (REIS et al., 2004; PEREIRA et al., 2005). O tratamento de sementes com fungicidas é o principal método utilizado na prevenção de doenças fúngicas associadas a sementes, tendo como objetivos reduzir ou eliminar o inóculo de fitopatógenos presentes na semente, protegendo-as durante a germinação de fungos habitantes do solo, garantindo a germinação das sementes e a emergência das plântulas em condições adversas de semeadura e evitando a transmissão dos fungos da semente para planta (LASCA, 1986; PEREIRA, 1986; CASA et al., 1995; PINTO, 1998).

Entre os fatores que ocasionam limitações no uso de fungicidas podemos citar: Valor econômico das culturas, falta de conhecimento dos agricultores, fitotoxidez,

incompatibilidade com outros defensivos, morte de inseto úteis e problemas de resíduos. E com isso, uma alternativa altamente viável é o uso do ozônio.

2.5 Uso do gás ozônio

O ozônio é um gás incolor de odor pungente, instável e parcialmente solúvel em água, que se destaca por seu elevado poder oxidante. O ozônio é um poderoso agente oxidante, eficaz na inativação de bactérias, bolores, leveduras, vírus, protozoários, inclusive formas esporuladas e cistos de protozoários, que são mais resistentes (USEPA, 1999; LAPOLLI et al., 2003; SOUZA, 2006;). O ozônio inativa diversas bactérias, incluindo gram-negativas e gram-positivas, células vegetativas e formas esporuladas, além de componentes do envoltório celular, esporos fúngicos ou capsídeos virais, em concentrações relativamente baixas e em reduzido tempo de contato (KIM et al., 1999; KHADRE et al., 2001; PRESTES, 2007).

No Brasil, vem sendo estudada a tecnologia da utilização do gás ozônio em grandes culturas e em hortaliças, para a prevenção de pragas, fungos e nas perdas na produção e na qualidade dos grãos. O gás ozônio é um poderoso agente oxidante, altamente tóxico não só pra insetos, mas podendo também evitar e/ou inibir o desenvolvimento de bactérias, fungos, vírus e protozoários.

O ozônio (O_3) é uma forma alotrópica do oxigênio, que pode ser produzida naturalmente como resultado de relâmpagos ou radiação ultravioleta (KIM et al., 1999), e também com a utilização de máquinas que expõem o gás oxigênio à descargas elétricas (GLAZE, 1987, BALAKRISHNANA et al., 2002, HARRISSON, 2000).

A tecnologia de utilização do ozônio é como agente sanitizante, apresenta diversas vantagens em relação aos demais procedimentos alternativos, a começar pela possibilidade de ser gerado no próprio local de atuação, além de ser considerado um dos mais efetivos agentes oxidantes. Sua decomposição ocorre rapidamente em oxigênio, deixando o ambiente livre de qualquer resíduo tóxico, em poucos minutos. Com relação ao seu efeito desinfestação, possui ação mais rápida e mais eficaz que outros produtos com a mesma função (RICE et al., 1982; XU, 1999; IBANOGLU, 2002; YOUNG; SETLOW, 2004).

A atuação biológica do ozônio se dá em duas modalidades, agindo diretamente sobre as moléculas alvo ou de forma indireta, radicais livres resultantes de processos de peroxidação de ácidos graxos polinsaturados e de oxidações de grupos sulfidrilas e aminoácidos de enzimas, proteínas e peptídeos (VICTORIN, 1992).

El-Desouky et al. (2012) trabalhando com *Triticum aestivum*, testou duas concentrações de ozônio (20 e 40 ppm) e quatro períodos de exposição (5, 10, 15 e 20 minutos). Concluiu que a concentração de 40ppm durante 20 minutos pode ser um método eficaz para o controle de *Aspergillus flavus* em grãos de trigo.

Abdel-Wahhab et al. (2011) estudou o efeito do gás ozônio no controle de fungos e aflatoxinas em amendoim. Foram usadas as concentrações de 20 ppm por 5 minutos, 40 ppm por 10 minutos e 50 ppm por 5 minutos. A exposição ao O₃ gasoso foi eficaz para reduzir a contagem total de fungos e conseguiu eliminar *A. flavus* nas amostras. A concentração de 40 ppm por 10 minutos conseguiu degradar aflatoxina em sementes de amendoim e alcançar o padrão exigido na Legislação Egípcia.

Ainda trabalhando com amendoim, Sahab et al. (2013) verificaram que a exposição a 40 ppm de O₃ durante 10 minutos degrada significativamente aflatoxinas não interferindo no teor de gorduras e proteínas, podendo ser utilizado eficazmente para a descontaminação de sementes de amendoim contaminados com aflatoxinas.

Em um trabalho com sementes de trigo, ervilha e cevada, em que foi aplicado ozônio (3% por peso) em três períodos de exposição (1, 1,5 e 3 minutos) para desinfecção das sementes, foi observado que o maior período de exposição foi mais eficiente na desinfecção de sementes sem influenciar na germinação (CICCARESE et al., 2007).

Violleau et al. (2007) com sementes de milho, realizaram o tratamento com oxigênio puro ([O₃] = 0 g / m³) e ozônio ([O₃] = 20 g / m³) durante 6, 8 ou 20,5 minutos. Avaliou-se comprimento de plântula e raiz, após 3, 4 e 5 dias. Observou-se que as sementes tratadas com ozônio apresentaram maiores medias e teve um inicio mais rápido de germinação e com comprimento maior de raiz. No entanto um tempo maior de exposição ao ozônio reduziu a taxa de germinação.

Savi et al. (2014) verificaram em sementes de trigo, que o gás O₃ foi eficiente no controle de fungos e proporcionou a degradação de micotoxinas, principalmente após 120

minutos, com concentração de 60 mmol / mol, sem causar alterações físicas e bioquímicas em grãos de trigo. Só afetou a germinação do trigo após 180 min de exposição, reduzindo a capacidade de germinação para 12,5%.

Os estudos de difração de raios X (XRD), peroxidação lipídica, perfil de proteínas totais e microscopia eletrônica de varredura não demonstraram diferenças significativas após o tratamento com O₃.

Luo et al. (2014) estudaram o efeito do tratamento de ozônio sobre a degradação de aflatoxina B1 (AFB1) na cultura do milho sob diferentes teores de umidade. A toxicidade dos produtos de degradação tratadas com ozônio no milho contaminado também foi avaliada utilizando células de carcinoma hepatocelular humano como modelo. Concluiu-se que a ozonização pode degradar rapidamente e de forma eficaz a aflatoxina B1 no milho e diminuir a toxicidade, e, portanto, a ozonização pode ser um método eficaz, rápido e seguro no controle de aflatoxina em milho, bem como sua toxicidade.

Marique et al. (2012), utilizaram ozônio no tratamento de sementes de *Triticum aestivum* L. contaminadas com fungos, *Fusarium* sp e *Alternaria* sp. A contagem visual das colônias não permitiu uma avaliação clara do efeito da desinfecção por ozônio. Utilizaram também análise de imagem para a contagem das colônias, a qual mostrou maior eficiência. O gás ozônio demonstrou eficiência no controle de fungos, principalmente de *Fusarium* sp.

Beber-Rodrigues (2013) testou o uso do gás ozônio no controle de fungos em grãos de arroz armazenado e verificou uma redução na quantidade total de fungos, contudo os gêneros *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e leveduras demonstraram resistência às concentrações de gás O₃ aplicado, e que os fungos mais sensíveis foram *Acremonium* e *Alternaria*.

2.5.1 Uso do gás ozônio em água

O ozônio diluído em água é utilizado para desinfecção de alimentos e superfícies, possuindo uma eficácia de desinfecção maior contra bactérias, quistos de protozoários, vírus, fungos e esporos de fungos em relação ao hipoclorito. Estes atributos fazem do ozônio uma

boa escolha, quando a água processada é reciclada ou reutilizada, evitando desperdícios deste recurso hídrico (KECHINSKI, 2007; Apud GUILLEN, 2008).

As concentrações de ozônio dissolvido geralmente não ultrapassam cinco ppm, uma vez que os tratamentos são efetuados sob condição atmosférica e temperatura próxima a do ambiente (FALCÃO, 2009).

A taxa de solubilização do ozônio depende do tamanho das bolhas do gás que borbulham na água, pois quanto menores as bolhas formadas, maior a superfície de contato. O tamanho mais adequado deve variar entre um e três mm de diâmetro. A taxa de fluxo de ozônio e o tempo de contato também afetam a transferência do gás para a água. A agitação da amostra incrementa o contato e a solubilização (KHADRE et al., 2001).

Em meio aquoso o ozônio se decompõe espontaneamente por um mecanismo complexo que envolve a formação de radicais livres de hidroxila, com meia vida, em água destilada, variando entre 20 a 25 min a 20 °C, decompondo-se novamente em oxigênio molecular sem deixar resíduos nos produtos alimentícios ou no ambiente após o tratamento (O'DONNELL et al., 2012).

A aplicação da água ozonizada se justifica para produtos que necessitam de uma etapa de lavagem durante o processo, visto que o ozônio cumpre esta dupla função de limpeza e sanitização (KECHINSKI, 2007).

Pesquisando uma espécie de grama, Hsieh et al. (1998) usaram ozônio em água a 240ppm por 6 dias consecutivos (4hs/dia) para avaliar o controle dos fungos *Bipolaris australiensis*, *Curvularia pallescens* e *Exserohilum rostratum*. Com o uso do ozônio saturado em água, foi verificada inibição da germinação dos esporos, sendo necessário 10, 13 e 30 min, respectivamente para matar os conídios de *B. australiensis*, *C. pallescens*, *E. rostratum* e *E. rostrato*. O uso da água ozonizada mostrou-se tão eficiente, quanto a aplicação de *Trichoderma* sp. e *Bacillus megasperium* e por dois fungicidas convencionais testados. Contudo o vigor evidenciado no crescimento das mudas foi aparentemente melhor a partir de sementes tratadas com água ozonizada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Semente utilizada

O experimento foi conduzido com semente de milho da variedade, 30F53, fornecida pela empresa DuPont Pioneer.

Essa cultivar possui algumas características importantes como alto potencial produtivo, precocidade, elevada resposta ao manejo e estabilidade às diversas condições climáticas. O plantio é recomendado para as regiões Sul e Centro Alto.

3.2 Análises laboratoriais

As análises foram feitas nos Laboratórios de Processamento de Produtos Agrícolas e no Laboratório de Sementes da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária do Campus Darcy Ribeiro.

3.2.1 Exposição das sementes ao gás ozônio

As sementes foram submetidas a duas condições: exposição da semente em água borbulhada sem ozônio e exposição da semente em água tratada com ozônio na concentração de 10 mg L^{-1} . Estas duas condições em quatro períodos de exposição 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 horas. Compondo um fatorial duplo, 2×4 , ou seja, duas condições e quatro períodos de exposição. Além disso, houve uma testemunha, conforme descrito a seguir:

Testemunha: semente sem nenhum tipo de tratamento;

A 0,5 - Semente em água borbulhada sem ozônio no período de exposição de 0,5 hora;

A 1,0 - Semente em água borbulhada sem ozônio no período de exposição de 1,0 hora;

A 1,5 - Semente em água borbulhada sem ozônio no período de exposição de 1,5 hora;

A 2,0 - Semente em água borbulhada sem ozônio no período de exposição de 2,0 horas;

B 0,5 – Semente em água tratada com ozônio na concentração de 10 mg L^{-1} no período de exposição de 0,5 hora;

B 1,0 - Semente em água tratada com ozônio na concentração de 10 mg L^{-1} no período de

exposição de 1,0 hora;

B 1,5 - Semente em água tratada com ozônio na concentração de 10 mg L^{-1} no período de exposição de 1,5 horas;

B 2,0 - Semente em água tratada com ozônio na concentração de 10 mg L^{-1} no período de exposição de 2,0 horas;

Os tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, com exceção do teste de emergência em campo, para o qual foi adotado o delineamento de blocos ao acaso.

A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada a partir dos seguintes testes:

3.2.2 Teste padrão de germinação (TPG)

Foram realizadas oito rolos de 25 sementes por tratamento, colocadas para germinar em substrato papel germitest em formato rolo, umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e colocadas em germinador regulado a 25°C , por sete dias, segundo critérios descritos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Ao final do teste estimou o número de plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.2.3 Teste de condutividade elétrica

Realizou-se a partir de dois copos de 50 sementes para cada tratamento, previamente pesadas e colocadas para embeber em copos plásticos contendo 75 mL de água deionizada e mantidas a 25°C por 24 horas.

Após o período de embebição, foi feita a leitura da condutividade elétrica, utilizando um condutivímetro DIGIMED, modelo CD 21, com eletrodo de constante 1.0, sendo os resultados finais expressos em $\mu\text{S/cm/g}$ (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

3.3 Análises de campo

3.3.1 Emergência de plântulas em campo (EC)

Este teste foi executado na Fazenda Água Limpa, localizada na área rural Vargem Bonita- DF. Realizou-se a semeadura manualmente, com quatro linhas de 25 sementes por tratamento, sendo as parcelas distribuídas ao acaso, espaçadas 50cm entre linhas.

A contagem das plântulas foi feita sete dias após a instalação e o resultado expresso em percentual de números de plântulas normais.

3.3.2 Altura de planta

A medição das plantas foi feita 60 dias após a semeadura (DAS). As plantas de milho se encontravam em estado vegetativo com aproximadamente 12 folhas. Na medição, considerou-se a altura rente ao solo até a inserção da primeira folha no caule. Foram medidas duas plantas de cada linha de plantio (parcela).

3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial para as análises laboratoriais e os de campo foi em blocos casualizados, com quatro repetições. As análises estatísticas foram feitas no programa Assistat 7.5 (SILVA; AZEVEDO, 2009). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentados os resultados das análises de variância realizadas para os testes de laboratório e em campo. Observa-se para o fator condição de exposição, a única análise que houve diferença significativa foi em condutividade elétrica com 95% de probabilidade. Para o período de exposição, observou-se diferença significativa no teste padrão de germinação ($P < 0,01$) e para altura de plantas ($P < 0,05$). Quando analisa a interação de condição com período de exposição, verifica-se significância no teste padrão de germinação ($P < 0,01$) e condutividade elétrica ($P < 0,01$). Comparando os fatores com a testemunha, a única análise que apresentou diferença foi a condutividade elétrica ($P < 0,01$).

Tabela 1. Resumo da análise de variância dos testes realizados em campo e em laboratório em sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.

FV	QM			
	TPG	EC	CE	AP
Condição	10,13 ^{ns}	125,37 ^{ns}	23,68*	235,85 ^{ns}
Per. Exp.	32,93**	6,00 ^{ns}	3,27 ^{ns}	387,56*
Cond. x Per.	17,27**	26,90 ^{ns}	15,39**	168,06 ^{ns}
Fat x Test.	1,25 ^{ns}	70,67 ^{ns}	102,52**	17,56 ^{ns}
Erro	2,81	45,44	4,1	102,84
CV	1,74	8,29	8,21	13,28
Média	96,22	81,28	24,67	76,38

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. *Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns} Não significativo pelo teste F. TPG: teste padrão de germinação; EC: Emergência em campo; CE: condutividade elétrica; AP: altura de planta; Per. Exp.: período de exposição; Cond. x Per.: condição x período de exposição; Fat x Test.: fatores x testemunha.

O valor médio da germinação encontrada foi de 96,22% (Tabela 1), demonstrando que a semente do lote avaliado apresentava alta qualidade, ficando acima do valor recomendado na Legislação Brasileira, que é de 85% (BRASIL, 2013).

A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação para todos os caracteres considerados pode ser considerada alta, ficando abaixo de 14% (Tabelas 1). Estes valores são condizentes com o que é normalmente observado em experimentos de avaliação da qualidade fisiológica em sementes de milho (BORBA et al., 1995; ANDRADE et al., 2001; RODRIGUES, 2007; PERES, 2010; SBRUSSI; ZUCARELI, 2015).

Na tabela 2 é possível verificar que o melhor resultado do teste de condutividade elétrica foi encontrado na condição de exposição A, ou seja, semente em água borbulhada sem ozônio, comparado com a condição B, em que corresponde à semente em água borbulhada com ozônio na concentração de 10 mg L⁻¹. Isso demonstra que a exposição da semente ao ozônio em água afetou a integridade de membranas das sementes. O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que, com o processo de deterioração, ocorre aumento da lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água, devido à perda da integridade dos sistemas de membranas celulares (HEPBURN et al., 1984; BRANDÃO JUNIOR, 1996).

Tabela 2. Valores médios obtidos no teste de condutividade elétrica em sementes de milho considerando a condição de exposição da semente. UnB, Brasília-DF, 2016.

Condição de exposição	CE (MScm ⁻¹ g ⁻¹)
A	23,21b
B	24,93a
DMS	1,46

Médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o critério de agrupamento de Tukey a 5% de probabilidade. CE: condutividade elétrica.

A avaliação da condutividade elétrica de grãos de milho constitui um dos procedimentos analíticos com o propósito de se analisar o vigor e, portanto, a condição fisiológica destes grãos. Seus resultados expressam a quantidade de íons lixiviados do interior dos grãos para o meio externo, ou seja, a solução na qual estão mergulhados, retratando,

diretamente seu grau de deterioração (VIEIRA; CARVALHO, 1994). Resultados que possuem menor valor são as sementes mais vigorosas, quanto maior o valor da condutividade pior a qualidade da semente.

Considerando o fator período de exposição, os únicos testes onde houve diferença significativa foram no teste padrão de germinação e na altura de plantas (Tabela 1). Sendo assim, na tabela 3, estão demonstrados apenas os dados do teste de médias para estes dois. No teste padrão de germinação, observa-se que o maior número de plântulas normais é evidenciado com 1,5 hora, seguido com o maior período de exposição de 2,0 horas. Esses resultados podem inferir que a exposição da semente em água, seja com ozônio ou sem, permitiu o osmo-condicionamento da semente.

Tabela 3. Valores médios obtidos no teste padrão de germinação e na altura de plantas, considerando o fator período de exposição, em sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.

Período de Exposição (horas)	Testes	
	TPG	AP
0,5	93,63c	82,87a
1,0	95,56bc	74,32ab
1,5	98,31 ^a	67,82b
2,0	97,13ab	81,48ab
DMS	2,29	13,86

Médias seguidas de mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o critério de agrupamento de Tukey a 5% de probabilidade. TPG: teste padrão de germinação; AP: Altura de planta; DMS: desvio médio significativo.

Violleau et al. (2007) trabalhando com sementes de milho, realizaram o tratamento com oxigênio puro ($[O_3] = 0 \text{ g / m}^3$) e ozônio ($[O_3] = 20 \text{ g / m}^3$) durante 6, 8 ou 20,5 minutos. Avaliaram o comprimento de plântula e raiz, após 3, 4 e 5 dias. Observaram que as sementes tratadas com ozônio apresentaram maiores medias e teve um início mais rápido de germinação e com comprimento maior de raiz. No entanto, um tempo maior de exposição ao ozônio reduziu a taxa de germinação.

Em um trabalho usando O₃ em trigo, os autores observaram que houve redução na taxa de germinação em 12,5% após 180 minutos de exposição. Em tempos menores, não houve efeito na germinação (SAVI et al., 2014).

A técnica do condicionamento osmótico desenvolvida por HEYDECKER et al. (1973) e HEYDECKER et al. (1975), apesar de fisiologicamente complexa, é simples em conceito. Tem como objetivo reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência das plântulas, submetendo as sementes a um controle da hidratação suficiente para permitir os processos respiratórios essenciais à germinação, porém insuficiente para propiciar a protrusão da radícula. Isto é, as sementes completariam as fases I e II da embebição, que são preparatórias para a germinação, sem, no entanto, avançarem para a fase III, caracterizada pelo alongamento celular e protrusão da radícula (SANTOS et al., 2008).

Na análise de altura de plantas, realizada em campo, com 60 dias após semeadura, observou-se que o maior desempenho das plantas ocorreu na exposição de apenas 0,5 horas; contudo a segunda melhor média é vista no maior período (2,0 horas). Como essa avaliação é feita no campo, vários fatores ambientais podem interferir no desempenho das plantas, como água, nutrientes do solo, luminosidade, etc.

Na análise dos dados relativos aos testes padrão de germinação e condutividade elétricas, observou-se que a interação entre a condição e o período de exposição das sementes, foi significativa (Tabela 1). Sendo assim, na tabela 4, observa-se os valores das interações. No TPG (teste padrão de germinação) o maior valor numérico é percebido na condição A1,5, ou seja, semente exposta na água borbulhada por 1,5 hora. E o menor valor na interação B0,5 (semente exposta em água borbulhada com ozônio por 0,5 hora). Considerando as duas condições, observou-se que em todos os períodos, a condição A foi melhor que a B, com exceção para o período de 2,0 horas. Quando comparamos os períodos, observa-se nas duas condições, que com o aumento do tempo de exposição, aumentou a germinação.

No trabalho de Hsieh et al. (1998) em sementes de uma gramínea (capim bermuda”) foi usado água ozonizada e o autor não identificou elevação da germinação. Contudo, o vigor do crescimento das plântulas, foi melhor a partir de sementes tratadas com água ozonizada.

Ciccarese et al. (2007) usou ozônio (3% por peso) em três períodos de exposição (1, 1,5 e 3 minutos) para desinfecção de sementes de trigo, ervilha e cevada e verificaram que o maior período de exposição foi mais eficiente na desinfecção de sementes sem influenciar na germinação.

Para a condutividade elétrica, o maior valor numérico é visto na interação B2,0 e o menor valor em A2,0. Demonstrando que o maior vigor foi verificado na condição de água borbulhada com maior tempo, ressaltando o efeito de condicionamento da semente em água. Quando se compara entre as condições, observou-se que sempre o melhor resultado foi na condição A, exceto para o período de 1,5 hora (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios dos testes de qualidade fisiológica relacionados à interação entre os fatores condição e período de exposição das sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.

Teste	Condição	Período de exposição (horas)			
		0,5	1,0	1,5	2,0
TPG	A	95.00aB	97.37aAB	98.87aA	95.62abA
	B	92.25bB	93.75bB	97.75aA	98.62aA
CE	A	21.98bA	23.62aA	25.47aA	21.75bA
	B	25.98aA	23.29aA	24.46aA	25.98aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, para cada característica separadamente. Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, para cada característica separadamente. TPG: teste padrão de germinação; CE: condutividade elétrica.

Na tabela 5 observou-se os dados de condutividade elétrica comparado com a testemunha. Verificou-se que a testemunha foi a que apresentou maior valor numérico, ou seja, a semente sem nenhum tratamento apresentou uma maior desestruturação do sistema de membranas celulares. Quanto maior o valor da condutividade, maior a quantidade de lixiviados presentes na solução de embebição, pior a qualidade da semente, menor o vigor (VIEIRA; CARVALHO, 1994). Novamente é possível reforçar o efeito do possível efeito do pré-condicionamento das sementes em água e o seu reflexo na recuperação das membranas.

O condicionamento fisiológico tem sido utilizado para reduzir o tempo de germinação, aumentar a germinabilidade, a uniformidade e vigor das plântulas. Dentre as técnicas de condicionamento fisiológico o osmocondicionamento tem sido a mais utilizada. Essa técnica consiste no pré-tratamento, onde as sementes são imersas em solução osmótica, sob tempo e temperatura determinados (Pereira et al. 2008). Várias pesquisas têm comprovado que o

osmocondicionamento promove um aumento na velocidade de germinação das sementes e na emergência das plântulas, permitindo uma germinação mais rápida e uniforme, além de aumentar a tolerância em germinar sob condições adversas em diferentes espécies vegetais, a exemplo do observado em *Adesmia latifolia* (Spreng) Vog (SUNE et al., 2002), *Petroselinum sativum* Hoffm. (RODRIGUES et al. 2009), *Physalis angulata* L. (SOUZA et al., 2011), *Sorghum bicolor* L. Moench (OLIVEIRA; GOMES FILHO, 2010).

Tabela 5. Médias obtidas no teste de condutividade elétrica (CE) em sementes de milho. UnB, Brasília-DF, 2016.

Tratamento	CE
A0,5	21,98 b
A1,0	23,63 b
A1,5	25,47 a
A2,0	21,75 b
B0,5	25,98 a
B1,0	23,29 b
B1,5	24,47 b
B2,0	25,98 a
Testemunha	29,44 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o critério de agrupamento de Tukey a 5% de probabilidade. CE: condutividade elétrica.

Um dos sintomas mais importantes do declínio da qualidade fisiológica das sementes é o aumento do intervalo da germinação da primeira e da última semente, ou seja, a desuniformidade de emergência entre plântulas de um mesmo lote (OLIVEIRA et al., 2009). Assim, a utilização de técnicas que possam acelerar e, conseqüentemente, trazer uniformidade da germinação das sementes, poderá trazer grandes benefícios para os agricultores (HEYDECKER; COOLBEAR, 1977).

Apesar de que nesse trabalho, o objetivo não era verificar o efeito do condicionamento osmótico, foi possível verificar esse efeito, tanto realizado com água borbulhada com ozônio e sem ozônio. Contudo é necessário que sejam realizados estudos mais aprofundados do

assunto, principalmente para verificar o efeito da água ozônio no osmocondicionamento de sementes.

5. CONCLUSÕES

O uso da água borbulhada sem ozônio proporcionou melhores resultados na germinação e vigor das sementes de milho.

O condicionamento das sementes em água com e sem ozônio proporcionou efeito positivo na germinação e vigor das sementes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-WAHHAB, M.A.; SEHAB, A.F.; HASSANIEN, F.R.; EL-NEMR, Sh., E., AMRA, H.A.; ABDEL-ALIM, H.A. Efficacy of ozone to reduce fungal spoilage and aflatoxin contamination in peanuts. **International Journal of Nuts and Related Sciences**, v.2, n.4, p. 01-14, 2011.

ANDRADE, R.V.; AUZZA, S.A.Z.; ANDREOLI, C.; MARTINS NETTO, D.A & OLIVEIRA, A.C. Qualidade fisiológica das sementes do milho híbrido simples HS 200 em relação ao tamanho, **Ciencia e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p 576-582, 2001.

ANDRADE, R.V.; BORBA, C.S. Tecnologia para produção de sementes de milho. Sete Lagoas: **EMBRAPA-CNPMS**, 1993. 61p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 6).

BALAKRISHNANA, P. A., ARUNAGIRIA, A., RAO, P. G., 2002 “Ozone Generation by Silent Electric Discharge and its Application in Tertiary Treatment of Tannery Effluent” **Journal of Electrostatics**, v. 56, pp. 77–86.

BALMER, E. Doenças do milho. In: GALLI, F. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. Vol. 2, p. 371-379.

BEBER-RODRIGUES, M. **Efeito do gás ozônio na qualidade micotoxicológica de arroz (*Oryza sativa* L.) em casca durante a armazenagem**. 2013. 123p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; ANDREOLI, C.; PURCINO, A.A.C. Germinação de sementes de diversos genótipos de milho tropical (*Zea mays* L.) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 2, p.141-144, 1995.

BRACCINI, A. L. et al. avaliação da qualidade fisiológica de semente de soja após o processo

de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1053-1066, jun. 1999.

BRANDÃO JUNIOR, D. E. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas na avaliação da qualidade de sementes de milho**. 1996. 110 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 45**, de 17 de setembro de 2013. Diário Oficial da União, DF, 20 set. 2013. p. 25, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012, 590p.

CASA, R.T., MOREIRA, E.N., WILLE, L.A., SANSIGOLO, A., MIRANDA, F., BOGO, A. & ALEXANDRE, F. Eficácia do tratamento de sementes de milho com fungicidas comercializadas em Santa Catarina e Rio Grande do Sul na safra de 2003/04. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, p. 29-209. 2004.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. Fungos associados à semente de milho produzida nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, n.3, p.370-373, 1998.

CICCARESE, F.; SASANELLI, N.; CICCARESE, A.; ZIADI, T.; AMBRICO, A.; MANCINI, L. Seed disinfestation by ozone treatments. **IOA Conference and Exhibition Valencia**, Spain - October 29 – 31, 2007, p.4.6 – 1.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. Seja **Doutor do seu milho**. Arquivo do Agrônomo. Piracicaba-SP. n 2º, 1995.

EL-DESOUKY, T.A., SHAROBA, A.M.A., EL-DESOUKY A.I., EL-MANSY, H.A., NAGUIB K. Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and *Aspergillus Flavus* Fungal. **J Environment Analytic Toxicol**, v.2:128, p.1-6, 2012.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. 2. ed. Brasília: Embrapa – SPI, 1996. p. 204.

FAGERIA, N. K. **Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas**. Brasília: Embrapa - DPU, 1989. p. 425.

FALCÃO, H.L. **Ozonium Systems Ltda**. Divulgação da empresa, *folder* explicativo e imagens de produtos. 2009.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 2004. 360p.

GLAZE, W. H., KANG, J.-W., CHAPIN, D. H “The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation” *Ozone Science & Engineering*, v. 9, pp. 335-352, 1987.

GOULART, A.C.P.; FIALHO, W.F.B. Eficiência de fungicidas no controle de patógenos em sementes de milho (*Zea mays* L.). **Informativo ABRATES**, Londrina, v.4, n.3, p.55-59, 1994.

GUILLEN, A.C. Estudo do uso do ozônio em sistema de CIP (clean in place) para indústria vinícola. Trabalho de Conclusão de Graduação. In: COLETÂNEA de trabalhos de conclusão do curso de Engenharia de Alimentos. Porto Alegre : ICTA/UFRGS, 2008. 111p. 1CD-ROM.

HARRISSON, J. F. **Ozone for Point-of Use, Point-of-Entry, and Small Water System Water Treatment Applications** – A Reference Manual, Water Quality Association, 86p,

2000.

HSIEH, S.PY.; NINQ, S.S.; TZENG, D.S. Control of turf grass seedborne pathogenic fungi by ozone. **Plant Pathology Bulletin**, v.7, p.105-112, 1998.

HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance; survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.5, n.2, p.353-425, 1977.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. **Nature**, London, v.246, n.5427, p.42-44, 1973.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, I. J. Invigoration of seeds? **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v.3, n.3/4, p.881-888, 1975.

HEPBURN, H. A.; POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybeans. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 12, n. 3, p. 403-13, Oct. 1984.

IBANOGLU, S. Influence of tempering with ozonated water on the selected properties of wheat flour. **Journal of Food Engineering** , v.48, p.345-350, 2001.

IBANOGLU, S. Wheat washing with ozonated water: effects on selected flour properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.579-584, 2002.

KHADRE, M.A.; YOUSEF, A.E.; KIM, J.G. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. **Journal of Food Science**, v.66, n.9, p.1242-1252, 2001.

KECHINSKI, C. P. **Avaliação do uso de ozônio e de outros tratamentos alternativos para a conservação do mamão papaia (*Carica papaya* L.)**. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande Sul, Porto Alegre.

2007. 125p.

KELLS, S.A.; MASON, L.J.; MAIER, D.E.; WOLOSHUK, C.P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.371-383, 2001.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, Malden, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection, Des Moines**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In. GONÇALVES, R. F. (Coord.). Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patógenos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica. Vitória: PROSAB, 2003. p. 169-208.

LERAYER, A.; MARQUES, D. Guia do Milho: Tecnologia do campo à mesa. Conselho de informações sobre Biotecnologia. Jul. 2006. Disponível em: http://www.cib.org.br/pdf/guia_do_milho_CIB.pdf Acesso em: 10/05/2016.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; BIAN, YUANYUAN, B.; CHEN, Z. Effect of ozone treatment on aflatoxin B1 and safety evaluation of ozonized corn. **Food Control**, v. 37, p. 171-76, 2014.

McGEE, D.C. Maize disease: a reference source for seed technologists. St. Paul: The American **Phytopathological Society**. 1988. 150p.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Circular Técnica, n. 20, 1995.

MARCHI, S. L. **Interação entre desfolha e população de plantas na cultura do milho na Região Oeste do Paraná.** Dissertação. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, Paraná, 2008. 58p.

MARCOS FILHO, J. **Teste de envelhecimento acelerado.** In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. cap.3, p. 1-24.

MARIQUE, T.; ALLARD, O.; SPANOGHE, M. Use of self-organizing map to analyze images of fungi colonies grown from *Triticum aestivum* seeds disinfected by ozone treatment. **International Journal of Microbiology.** 5p. 2012

MENDEZ, F.; MAIER, D.E.; MASON, L.J.; WOLOSHUK, C.P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.33-44, 2003.

MONTEIRO, J. A.; CRUZ, J. C.; SANS, L. M. A.; BAHIA, F. G. T. C.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA FILHO, A. F. C. O zoneamento macroecológico. In: CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. de A.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA, F. G. F. T. de C.; SANS, L. M. A.; PEREIRA FILHO, I. A. P. (Ed.). **Recomendações técnicas para o cultivo do milho.** 2. ed. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1996.

O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; RICE, R. G. **Ozone in food processing.** 1. ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2012, 308 p.

OLIVEIRA DUARTE, J. de. **Cultivo do Milho.** Mercado e comercialização. Embrapa (Ed.). Set. 2008.

OLIVEIRA, A.B.; GOMES-FILHO, E. Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.32, n.3, p.25-34, 2010.

OLIVEIRA, A.B.; MEDEIROS FILHO, S.; BEZERRA, A.M.E.; BRUNO, R.L.A. Emergência de plântulas de *Copernicia hospita* Martius em função do tamanho da semente, do substrato e ambiente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.281-287, 2009.

PEREIRA, O.A.P., CARVALHO, R.V. & CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: KIMATI, H., AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds). Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 4ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, vol.2. p.477-488, 2005.

PERES, W.R.L. **Teste de vigor em sementes de milho**. Jaboticabal, 2010. 61p. (Mestrado – UNESP).

PINTO, N.F.J. Tratamento com fungicidas de sementes de milho. In: SOAVE, J., OLIVEIRA, M.R.M.; MENTEN, J.O.M. (Eds.) **Tratamento químico de sementes**. Anais, 4º Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, Gramado, RS, 1996. pp.52-57.

POPINIGIS, F. Fisiologia de sementes. Brasília: Agiplan, 1977. p. 289.

PRESTES, E. B. **Avaliação da eficiência do ozônio como sanitizante em hortaliças folhosas minimamente processadas**. 2007. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

REIS, W. dos.; JOBIM, C. C.; MACEDO, F. A. F.; MARTINS, E. N. e; CECATO, U. Características da carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo grãos de milho conservados em diferentes formas. **Revista brasileira zootécnica**. Viçosa, Agos. 2001.

REIS, A.C.; REIS, E.M.; CASA, R.T.; FORCELINI, C.A. Erradicação de fungos patogênicos associados a sementes de milho e proteção contra *Pythium* sp. presente no solo pelo tratamento com fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.585-590, 1995.

REIS, E.M.; CASA, R.T. & BRESOLIN, A.C.R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. 144p.

RICE, R. G.; FARQUHAR, J. W.; BOLLYKY, J. Review of the applications of ozone for increasing storage times of perishable foods. **Science and Engineering**, V.4, p. 147-163, 1982.

RODRIGUES, A.B. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho de classes de tamanho misturadas para fins de semeadura fluidizada. Jaboticabal, 2007. 45p. (Mestrado – UNESP).

RODRIGUES, A. P. D. C.; LAURA, V. A.; CHERMOUTH, K. da S.; GADUM, J. Osmocondicionamento de sementes de salsa (*Petroselinum sativum* Hoffm.) em diferentes potenciais hídricos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 5 p. 1288-1294, set./out., 2009.

SAHAB, A.F.; HASSANIEN, F.R.; EI-NEMR, S.E.; ABDEL-ALIM, H.A.; ABDEL-WAHHAB, M.A. Effect of ozone gaseous on aflatoxin degradation and fat and protein content in peanut seeds. **Journal of Applied Sciences Research**, 9(3): 2170-2175, 2013.

SANS, L. M. A.; GUIMARAES, D. P. Zoneamento agrícola. In: CRUZ, J. C. (Ed.). Cultivo do milho. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção, 1). Disponível em: . Acesso em: 10 mai. 2016.

SANTOS, M. C. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, M. S.; SILVA, R. F.; SOUSA, P.A. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 2, p. 1-6, 2008.

SAVI, G.D.; PIACENTINI, K.C.; BITTENCOURT, K.O.; SCUSSEL, V.M. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) quality and germination. **Journal of Stored Products Research**, p.1-9, 2014.

SBRUSSI, C.A.; ZUCARELI, C. Germinação sob altas temperaturas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.10, p.1736-1741, out, 2015.

SCUSSEL, V. M.; LORINI, I.; MIKE, L. H. Fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e produção de toxinas. **LORINI, I.; MIKE, LH; SCUSSEL, VM Armazenagem de grãos. Campinas: IBG, 2002.**

SILOTO, R. C. Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipo de milho. Piracicaba, SP. 2002 93 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. **Principal components analysis in the software assistat-statistical assistance.** In: 7th World Congress on Computers in Agriculture, 2009, Reno. **Proceedings of the 7th World Congress on Computers in Agriculture.** St. Joseph: ASABE, 2009. v. CD-Rom. p.1-5.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Adubação com nitrogênio.** In: SOUSA, D.M.G. & LOBATO, E., eds. Cerrado: correção do solo e adubação. 2.ed. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2002. p.129-144.

SOUZA, J. B. Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro. 2006. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, São Carlos.

SOUZA, M.O.S.; SOUZA, C.L.M.; PELACANI, C.R. Germinação de sementes osmocondicionadas e não osmocondicionadas e crescimento inicial de *Physalis angulata* L. (Solanaceae) em ambientes salinos. **Acta Botanica Brasilica**, 25:105-112. 2011.

SUNE, A.D.; FRANKE, L.B.; SAMPAIO, T. G. Efeitos do condicionamento osmótico na

qualidade fisiológica de sementes de *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.18-23, 2002.

USDA. United States Department of Agriculture. **Grain: World Markets and Trade**, October 10, 2015b. Disponível em: < <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/grain-market/grain-market-10-09-2015.pdf> >. Acesso em: 29 de Outubro de 2015.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. 1999.

VICTORIN, K. Review of the genotoxicity of ozone. **Mutation Research**, v. 277, p. 221-238, 1992.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VIOLLEAU, F.; HADJEBA, K.; ALBET, J.; CAZALIS, R.; SUREL, O.; Increase of corn seeds germination by oxygen and ozone treatment. **IOA Conference and Exhibition**, Valencia, Spain - October 29 – 31, 2007.

XU, L. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. **Food Technology**, v.53, p.58-61, 1999.

YOUNG, S. B. & SETLOW, P. Mechanisms of *Bacillus subtilis* spore resistance to and killing by aqueous ozone. **Journal of Applied Microbiology**, v.96, p.1133-1142, 2004.

WU, J.; DOAN, H.; CUENCA, M. A. Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.81, p. 1288-1298, 2006.