



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

FRANCISCO ESIO PORTO DIÓGENES

**EMPREGO DO PLASMA DE DESCARGA POR BARREIRA DIELÉTRICA
(DBD) NA INATIVAÇÃO DE FUNGOS E NA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA
EM SEMENTES DE *Erythrina velutina* Willd.**

MOSSORÓ-RN

2017

FRANCISCO ESIO PORTO DIÓGENES

**EMPREGO DO PLASMA DE DESCARGA POR BARREIRA DIELÉTRICA
(DBD) NA INATIVAÇÃO DE FUNGOS E NA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA
EM SEMENTES DE *Erythrina velutina* Willd.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Orientador: Prof. D. Sc. Salvador Barros Torres

Co-orientadores: Prof.D. Sc. Clodomiro Alves Júnior e Prof^a Dra Sc. Selma Rogéria de Carvalho Nascimento

MOSSORÓ-RN

2017

FRANCISCO ESIO PORTO DIÓGENES

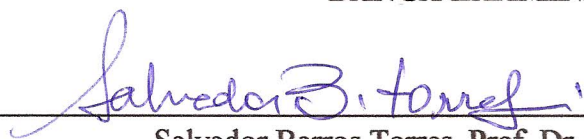
**EMPREGO DO PLASMA DE DESCARGA POR BARREIRA DIELÉTRICA (DBD)
NA INATIVAÇÃO DE FUNGOS E NA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM
SEMENTES DE *Erythrina velutina* Willd.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Agronomia: Fitotecnia.

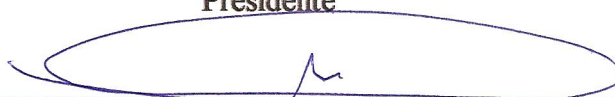
Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Defendida em: 31/10/2017

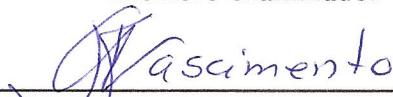
BANCA EXAMINADORA



Salvador Barros Torres, Prof. Dr. (EMPARN/UFERSA)
Presidente



Clodomiro Alves Junior Prof. Dr. (UFRN/UFERSA)
Membro examinador



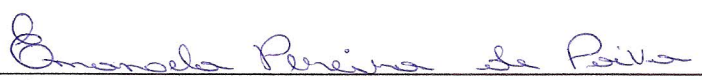
Selma Rogéria de Carvalho Nascimento, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro examinador



Damiana Cleuma de Medeiros, Profa. Dra. (UFRN)
Membro examinador



Cynthia Cavalcantide Albuquerque, Profa. Dra. (UERN)
Membro examinador



Emanoela Pereira de Paiva, Dra. (PNPD/UFERSA)
Membro examinador

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

P591e PORTO DIÓGENES, FRANCISCO ESIO.
EMPREGO DO PLASMA DE DESCARGA POR BARREIRA
DIELÉTRICA (DBD) NA INATIVAÇÃO DE FUNGOS E NA
SUPERACÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE *Erythrina*
velutina Willd. / FRANCISCO ESIO PORTO DIÓGENES. -
2017.
62 f. : il.

Orientador: SALVADOR BARROS TORRES.
Coorientador: CLODOMIRO ALVES JUNIOR.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2017.

1. MULUNGU. 2. FITOPATÓGENOS. 3. PLASMA Á FRIO
. 4. TRATAMENTO DE SEMENTES. I. BARROS TORRES,
SALVADOR, orient. II. ALVES JUNIOR, CLODOMIRO,
co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

*À minha esposa Andreyka Kalyana de Oliveira,
pela paciência, amor e compreensão. Sem você
não conseguiria chegar até aqui*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente Deus, pela minha proteção e da minha família.

À minha esposa Andreyra Kalyana, pelo companherismo, amor e carinho, sem você ao meu lado tudo seria mais difícil.

À minha sogra, dona Maria Anália pela amizade e apoio.

À minha cunhada, Dra. Saúde Oliveira (saúdinha), pela força e estímulo durante todo o curso, serei eternamente grato!

Ao meu orientador Salvador Barros Torres pelas orientações, críticas construtivas durante toda minha formação. Muito obrigado!

À professora Selma Rogéria, pela orientação, pela amizade e apoio, sem sua ajuda tudo ficaria muito mais difícil. Muito obrigado!

Ao professor Clodomiro Alves Junior pela oportunidade de ingressar no projeto, pelos ensinamentos de plasma. Muito obrigado!

À professora Marcia Michelle, pela boa receptividade sempre que precisei, pelas dúvidas esclarecidas e pela amizade. Muito obrigado!

Aos amigos do labplasma, especialmente à Jucier Oliveira, pela ajuda na execução dos experimentos. Muito obrigado!

Aos amigos do Laboratório de Análise de Sementes, profa. Clarisse Benedito, César Gois, Raimundo Nonato, Sara Monaliza, Emanoela de Paiva, Danielle Marie, Renata Torquato.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia, Andrea Mirna e Beatriz Silva.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade.

À CAPES pela concessão da bolsa.

Ao professor Vander Mendonça, ex-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pelo bom trabalho durante sua gestão.

A todos da UFERSA

RESUMO

Mulungu (*E. velutina* Willd.) é uma espécie que apresenta considerável importância econômica, por apresentar alto potencial para o mercado madeireiro, cosmético e medicinal, agregando valor econômico e ambiental. O controle de fungos em sementes armazenadas, assim como a superação da dormência, é fundamental para obtenção de mudas saudáveis e uniformes. Nesse sentido, foram realizados dois experimentos com sementes de mulungu, objetivando avaliar o efeito do plasma atmosférico na inativação de fungos, e também como meio de superação da dormência em sementes desta espécie. No primeiro experimento, avaliou-se a inativação de fungos na superfície de sementes de *E. velutina* e nas colônias fúngicas isoladas. Para isso, utilizou-se o plasma de descarga por barreira dielétrica (DBD), por meio de pulsos de voltagem de 9 kV, repetidos em frequência de 640 Hz, com os gases hélio (He) e atmosférico (Air). Para o segundo experimento, verificou-se a resposta fisiológica e germinativa das sementes após serem pré-tratadas com o plasma. As sementes foram imersas em plasma durante 3, 6 e 9 minutos e para efeito de comparações, utilizou-se sementes sem tratamento (controle) e sementes com despoje na região aposta à micropila. O plasma atmosférico reduziu a incidência dos fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Brachysporium* sp. e *Rhizopus* sp. em sementes de *E. velutina*. Quando isolados os esporos, o plasma reduziu a formação de colônias de fungos. Com relação à aplicação do plasma para superação da dormência, não verificou-se diferenças significativas quando comparadas com as sementes de *E. velutina* não tratadas.

Palavras-chave: Fitopatógenos. Mulungu Plasma à frio. Tratamento de sementes.

ABSTRACT

Mulungu (*E. velutina* Willd.) is a species that presents considerable economic importance, due to its high potential for the wood, cosmetic and medicinal market, adding up economic and environmental value. The control of fungi in stored seeds, as well as the overcoming of dormancy, is fundamental to obtain healthy and uniform seedlings. In this sense, two experiments were carried out with mulungu seeds, aiming to evaluate the effect of atmospheric plasma on inactivation of fungi, as well as a method of overcoming dormancy in seeds of this species. In the first experiment, inactivation of fungi on the surface of *E. velutina* seeds and in the isolated fungal colonies was evaluated. For this, discharge plasma by dielectric barrier (DBD) was used, via pulses of voltage of 9 kV, repeated in frequency of 640 Hz, with helium (He) and atmospheric (Air) gases. For the second experiment, physiological and germinative response of seeds after pretreatment with the plasma was verified. Seeds were immersed in plasma for 3, 6, and 9 minutes and for purpose of comparison, seeds without treatment (control) and seeds scarified in the opposite side of micropyle were used. Atmospheric plasma reduced the incidence of fungi *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Brachysporium* sp. and *Rhizopus* sp. in *E. velutina* seeds. When spores were isolated, plasma reduced formation of fungal colonies. Regarding the application of plasma to overcome dormancy, there were no significant differences when compared to untreated *E. velutina* seeds.

Key words:Phytopathogens. Cold Mulungu Plasma. Seed treatment

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1** - Aparato experimental para tratamento das sementes por jato de plasma atmosférico de descarga por barreira dielétrica (DBD). UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....29
- Figura2** - Crescimento de micélio fúngico em sementes de *E.velutina* Willd. após tratamento de plasma de descarga por barreira dielétrica. A, B e C = aplicação de gás hélio por 3, 6 e 9 minutos, respectivamente; D, E e F = aplicação de gás atmosférico por 3, 6 e 9 minutos. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....34
- Figura3** - Unidade formadora de colônias por mL (ufc.mL⁻¹) de fungos isolados de sementes de *E.velutina* Willd., após o tratamento com plasma de descarga por barreira dielétrica, a partir de gás atmosférico aplicado por 3, 6 e 9 minutos de plasma, (Ar-3), (Ar-6) e (Ar-9), respectivamente. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....36
- Figura4** - Número de micélios fúngico, isolado de sementes de *E.velutina* Willd., após tratamento com plasma a partir de gás atmosférico. A=Testemunha; B = 3 min.de plasma; C = 6 min. de plasma; D = 9 min. de plasma. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....38
- Figura 5** - Espectroscopia de Emissão Óptica de plasma produzido a partir do gás atmosférico. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....39

CAPÍTULO 3

- Figura 1** - Porcentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), comprimento da parte aérea (C), diâmetro do colo (D), numero de folhas (E), massa seca da parte aérea (F) de plântulas *E.velutina* Willd. após as sementes serem submetidas ao tratamento com plasma atmosférico (plasma (3 min.); plasma (6 min.); plasma (9 min.) = aplicação de plasma aos tempos de três, seis e nove minutos. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....53

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** - Condições experimentais dos tratamentos com plasma. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....30
- Tabela 2** - Presença de fungos em sementes de *E.velutina* Willd. Após tratamento com plasma de descarga por barreira dielétrica aplicados durante 3, 6 e 9 minutos com os gases hélio (He 3, He-6 e He-9) e atmosférico (Ar-3, Ar 6 e Ar 9) UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....33
- Tabela 3** - Incidência de fungos (%) em sementes de *E.velutina* Willd. tratadas com plasma de descarga por barreira dielétrica a partir dos gases hélio (He) e atmosférico (Ar) aplicados durante 3, 6 e 9 minutos. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....35

CAPÍTULO 3

- Tabela 1** - Resumo da análise de variância para as características porcentagem de germinação (PG), velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), massa seca da parte aérea (MSPA), número de folhas (NF), diâmetro do colo (DC), índice de de plântulas de *E. velutina* Willd. após tratamento com plasma atmosférico. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....52

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO		10
1	INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE.....	12
2.2	CONCEITO DE PLASMA.....	12
2.3	PLASMA NA AGRICULTURA.....	14
2.4	PLASMA EM SEMENTES.....	15
	REFERÊNCIAS	18
 CAPÍTULO 2- INATIVAÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DE SEMENTES DE <i>E. velutina</i> WILLD. ATRAVÉS DA TECNOLOGIA DO PLASMA ATMOSFÉRICO.....		25
	RESUMO.....	25
	ABSTRACT	26
1	INTRODUÇÃO.....	27
2	MATERIAL E MÉTODOS	29
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4	CONCLUSÕES.....	40
	REFERÊNCIAS	41
 CAPÍTULO 3 - TECNOLOGIA DO PLASMA DE DESCARGA POR BARREIRA DIELÉTRICA (DBD) NA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM SEMENTES DE <i>E .velutina</i> WILLD.....		46
	RESUMO.....	46
	ABSTRACT.....	47
1	INTRODUÇÃO.....	48
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4	CONCLUSÕES.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO GERAL

E. velutina Willd. (Fabaceae) é uma espécie arbórea de médio porte (5 a 10 m de altura), nativa da região semiárida do Nordeste brasileiro e conhecida popularmente como mulungu, suinã, canivete, corticeira, pau-de-coral, sanaduí, sanaduva, saranduba, maçaranduba e bico-de-pássaro. É uma espécie resistente à seca, rústica e de rápido crescimento (LORENZI; MATOS, 2008).

A literatura etnobotânica registra o uso tradicional do mulungu na medicina popular e, também, é empregada para fins ornamentais principalmente na época do florescimento, sombreamento de cacauzeiros e cerca viva (LORENZI, 2002; MATOS; QUEIROZ, 2009). Possui madeira leve, macia e pouco resistente aos agentes decompositores, sendo empregada na confecção de tamancos, jangadas, brinquedos e caixotaria (VIRTUOSO et al., 2005), atualmente como componente dos sistemas agroflorestais (RIBEIRO et al., 2014). Estudos comprovam que a espécie, apresenta uma grande variabilidade genética, sendo indicada para recuperação de áreas degradadas (AZEVEDO et al., 2013).

Apesar da grande importância da *E. velutina*, especialmente para o bioma Caatinga, existem problemas que pode limitar a produção de mudas em grande escala, sendo a dormência tegumentar de suas sementes, um destes entraves (SANTOS et al., 2013). Esse fato tem dificultado a germinação, que ocorre de forma lenta e desuniforme (MARCOS-FILHO, 2015). Os tratamentos para superar a dormência tegumentar incluem imersão em água, escarificação química, mecânica e reguladores de crescimento. Entre estes tratamentos, a escarificação mecânica com lixa tem sido o meio mais eficiente na superação da dormência, elevando a taxa germinativa de sementes de *E. velutina* (MAJD et al., 2013). No entanto, problemas como a redução do vigor, aumento das taxas de microorganismos e aumento de anormalidade de plântulas (SELCUK et al., 2008) são também constatados. A contaminação por fungos durante o armazenamento das sementes é outro fator relevante, principalmente quando se trata de sementes florestais, pois a influência da sazonalidade na produção destas espécies é

normalmente verificada em determinados anos (BRASIL, 2009), havendo necessidade de um maior tempo de armazenamento.

Recentemente, muitos tipos de fontes de plasma frio à pressão atmosférica foram desenvolvidos para aplicações agrícolas. Algumas fontes foram testadas visando à inativação de microrganismos e/ou aceleração da germinação de sementes (MASAFUMI et al., 2012). Esse método é amplamente utilizado para modificar as propriedades físicas e químicas de superfícies de polímeros (WILD; KESMODEL, 2001; SILVA et al., 2012) que consiste basicamente na aplicação de uma diferença de potencial entre dois eletrodos imersos em gás. Com isso, são gerados íons, elétrons, partículas neutras energéticas e radicais, além da radiação ultravioleta, que interagindo com superfícies orgânicas como as de sementes, frutos e legumes, promovem a quebra parcial das cadeias poliméricas, incluindo novos grupos funcionais (CARVALHO et al., 2002).

Em vista disso, objetivou-se a inativação de fungos e superação da dormência tegumentar em sementes de *E. velutina* por meio da utilização do plasma atmosférico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

E. velutina Willd. Também conhecida como mulungu, suinã, bico-de-papagaio, canivete, entre outros, pertencente à família Fabaceae (Leguminosae-Papilionoidae), é uma árvore decídua, de copa aberta e arredondada, muito florífera e ornamental, espinhosa, que atinge de seis a doze metros de altura. Seu gênero é composto aproximadamente de 120 espécies, 70 ocorrendo nas Américas, com apenas uma espécie ocorrendo na Caatinga (QUEIROZ, 2009). Utilizada no sombreamento do caucaueiro e como cerca-viva, devido à facilidade com que brota de estacas plantadas no próprio local. É resistente à seca, apresenta rusticidade, rápido crescimento e propriedades medicinais. Suas folhas são compostas trifoliadas, alternas, de folíolos cartáceos, velutino-pebercentes, medindo de 3-12 cm de comprimento. Apresenta flores vermelho-coral grandes, dispostas em panículas racemosas com raque pulverulenta, formadas com a árvore totalmente despida de suas folhagens, que são frequentemente visitadas por pássaros que sugam seu néctar. Seu fruto do tipo vagem é deiscente, com 5-8 cm de comprimento, contendo 1-3 sementes reniformes de cor vermelha e brilhantes (LORENZI; MATOS, 2008).

É uma espécie nativa da Caatinga do Nordeste brasileiro e vale do São Francisco, muito ornamental quando em floração, sendo ocasionalmente empregada no paisagismo. Outras espécies desse gênero ocorrem em outras regiões do país com características semelhantes e com o mesmo nome popular (LORENZI; MATOS, 2008).

A literatura etnobotânica registra seu uso tradicional em medicina popular como medicação caseira para acalmar pessoas muito excitadas, promover um sono tranquilo, aliviar crises de palpitação do coração e uso expectorante. Estudos farmacológicos comprovaram que o extrato de mulungu apresenta propriedades espasmolítica, curarizante, antimuscarínica e depressora do sistema nervoso central, propriedades estas, compatíveis com as preconizadas pelo uso popular (ESALQ, 2008).

2.2 CONCEITO DE PLASMA

A matéria é formada por átomos e estes por sua vez se constituem de elétrons, prótons e neutros. O grau de afinidade, ou seja, interação entre essas partículas definem a formação dos três estados físicos já conhecidos: sólido, líquido e gasoso (BOULOS et al., 1994). É neste último estado que as moléculas têm forças intermoleculares mais

fracas, sem que as substâncias percam as suas propriedades químicas intrínsecas à sua estrutura molecular (OLIVEIRA et al., 2010).

Estudos iniciais com plasma foram realizados por Sir William Crookes em 1879 quando constatou que a aplicação de calor ao gás provocava sua separação em átomos individuais separados em íons positivos e elétrons, formando assim o que se denomina de quarto estado físico da matéria (ESIBYAN, 1978). O nome dado como quarto elemento da matéria dá-se justamente pela sua constituição no universo, perfazendo mais de 99,99% da luz visível (BOULOS et al., 1994; ALVES Jr., 2001).

O primeiro estudo com plasma foi realizado em 1928 pelo físico americano Irving Langmuir em estudos de ionização de gás em baixa pressão. Com esta descoberta, Irving Langmuir determinou a propriedade de neutralidade elétrica do gás capaz de responder a campos magnéticos e elétricos (ROTH, 1995). A palavra plasma vem do grego que significa alguma coisa que pode ser moldada ou formada. É considerado o quarto estado da matéria e é definido como um gás constituído por espécies eletricamente carregadas e neutras como elétrons, íons, átomos e moléculas (EDENHOFER, 1974). A relação entre essas espécies tem sido objeto de estudos em várias pesquisas (BARBOSA, 2011; CVELBAR et al., 2008; JAMROZ; ZYRNICKI, 2005).

O plasma é uma mistura de fótons (UV, Vis, e IV), elétrons, partículas carregadas negativamente e positivamente, radicais, átomos e moléculas neutras (ROTH, 1995). Também denominado de descarga elétrica, descarga gasosa ou descarga luminescente, é um estado distinto da matéria, sendo composto por grande número de partículas carregadas (elétrons, íons) e neutras onde há uma igualdade de portadores de cargas positivas e negativas (ALVES Jr., 2001), sendo encontrado em nosso cotidiano em formas naturais e artificialmente produzidas pelo homem (ZUCOLOTTO JUNIOR, 2006). Na natureza ocorre nos relâmpagos, aurora boreal, fogo e sol. As formas artificiais são comumente achadas em lâmpadas fluorescentes, purificadores de água (BOULOS et al., 1994).

O plasma pode ser classificado em três categorias: plasma em equilíbrio termodinâmico completo (ETC), plasma em equilíbrio termodinâmico local (ETL) e plasma sem equilíbrio termodinâmico local (Sem ETL). O primeiro trata-se de um estado só encontrado nas estrelas ou em intervalos curtos de uma forte explosão, o segundo por sua vez, é o estado onde todas as temperaturas consideradas são iguais, em um pequeno volume de plasma, com exceção da temperatura de radiação, esses são

chamados de plasmas térmicos; o terceiro são os plasmas denominados frios (BASTOS, 2010).

Para produzir qualquer tipo de plasma é necessário que exista uma descarga ou fluxo de corrente elétrica, através de um meio gasoso (MIOLA, 2000). Assim sendo, pode ser obtido artificialmente ao se inserir um gás neutro entre dois eletrodos aplicando-se uma diferença de potencial entre eles promovendo a aceleração dos elétrons. Neste processo ocorre a transferência de energia devido à colisão dos elétrons com partículas neutras. Essas colisões provocam a liberação de mais elétrons, novamente influenciadas pelo campo elétrico, colidindo novamente com mais partículas promovendo a ionização do gás (BARBOSA, 2011). Outra maneira de se produzir plasma em laboratório segundo Zucolotto Junior (2006) é por meio de dois eletrodos ligados a uma fonte de tensão em um ambiente hermeticamente fechado e com baixa pressão. Quando a tensão da fonte é aumentada os elétrons e íons são excitados/acelerados pelo campo magnético entre os dois eletrodos, colidindo com outras partículas, gerando mais elétrons e íons estabelecendo assim uma corrente elétrica entre um eletrodo e outro, produzindo uma descarga elétrica.

2.3 PLASMA NA AGRICULTURA

Recentemente, fontes de plasma à pressão atmosférica estão sendo muito utilizadas no meio agrícola, desenvolvidas para serem aplicadas na inativação de microrganismos e aceleração da germinação de sementes (MASAFUMI et al., 2012). Essa tecnologia pode ser uma alternativa promissora para a agricultura, pois esse método apresenta algumas vantagens: modifica materiais de diversas naturezas, não produz resíduos poluentes, baixo consumo de energia elétrica, não usa produtos químicos, trata materiais independente do tamanho e da forma da amostra, o processo é fácil de ser controlado, uso de baixa temperatura através do plasma de descarga por barreira dielétrica (DBD) e processamento em curto tempo (MASAFUMI, 2013). Constitui-se um método de baixo custo de manutenção, ecologicamente correto e inovador para melhorar a qualidade e rendimento das culturas (JIANG et al., 2014).

A melhoria na germinação em sementes dormentes, imposta pelo seu tegumento, se explica devido à ocorrência de reações químicas pela interação do plasma com a superfície da semente (SERÁ et al., 2008). Segundo os mesmos autores, isso faz com que a camada que antes era hidrofóbica se torne hidrofílica reduza a impermeabilidade do tegumento, conseqüentemente melhorando a absorção de água pela semente. No

entanto, é fundamental a escolha do tipo de plasma, o tempo de aplicação, composição dos gases usados em sua formação, bem como material genético envolvido. O plasma a frio gerado a partir do gás atmosférico, por exemplo, tem mostrado resultados promissores na germinação de sementes (DUBIDOV et al., 2000; LIANG et al., 2008) pela modificação da superfície do tegumento (YIN et al., 2005; DHAYAL et al., 2006; SERÁ et al., 2008).

Métodos comuns utilizados para a esterilização de sementes e inativação microbiana, envolvem a utilização de altas temperaturas e produtos químicos. Apesar de apresentarem eficiência quanto à esterilização e redução na proliferação de microrganismos, estes métodos mostram algumas desvantagens. Alguns materiais apresentam sensibilidade ao calor e podem apresentar danos irreversíveis quando aquecidos, principalmente quando se tratar de produtos químicos, podem comprometer a segurança alimentar, além de riscos no manuseio desses produtos (MOISAN et al., 2002).

Com o avanço tecnológico surge à necessidade de uma técnica eficiente na descontaminação de microrganismo, que não seja tóxico, não apresente riscos no manuseio, funcione em baixas temperaturas e possa atuar em uma ampla gama de materiais (SURESHKUMAR et al., 2010). Entre os métodos de inativação de microrganismos, o plasma não-térmico à pressão atmosférica, alcançou uma atenção crescente. Esta tecnologia apresenta inúmeras vantagens em relação aos métodos convencionais, tais como, não tóxica, baixos riscos operacionais, necessita de curto tempo de tratamento, e baixas temperaturas, proporciona redução significativa de microrganismos e trata materiais independentes do tamanho e da forma de amostra (SONG et al., 2009; CHIANG et al., 2010; KORACHI et al., 2010).

2.4 PLASMA EM SEMENTES

Sementes dormentes apresentam dificuldades para germinarem mesmo quando são expostas em condições favoráveis, ocorrendo principalmente nas espécies florestais. Uma das causas mais comum da dormência é a impermeabilidade do tegumento, à entrada de água no embrião, condição fundamental nas reações metabólicas das sementes para que ocorra a germinação (MARCOS-FILHO, 2015). Vários são os métodos utilizados na literatura, que ajudam a entrada de água em sementes dormentes imposta pelo o tegumento. A escarificação, que segundo Marcos-Filho (2015) é qualquer tratamento que resulte na ruptura ou no enfraquecimento do tegumento,

permitindo a passagem de água e dando início ao processo germinativo, é realizada de forma mecânica com lixas, química com ácido sulfúrico ou física com imersão em água quente (ALBUQUERQUE et al., 2007).

O método de aplicação do plasma parece promissor para a superação de dormência em sementes. Esse método é amplamente utilizado para modificar as propriedades físicas e químicas de superfícies de polímeros (WILD; KESMODEL, 2001; SILVA et al., 2012). Consiste basicamente na aplicação de uma diferença de potencial entre dois eletrodos imersos em gás, do qual são gerados íons, elétrons, partículas neutras energéticas e radicais, além da radiação ultravioleta, que interagindo com superfícies orgânicas como as de sementes, promovem a quebra parcial das cadeias poliméricas, incluindo novos grupos funcionais (CARVALHO et al., 2002), dessa forma, em muitos casos, torna as superfícies com maior afinidade por água.

A radiação do plasma foi utilizada para melhorar a germinação das sementes das espécies: *Sophora flavescens* e *Cassia torosa*. O tratamento com plasma acelera a embebição da água nas sementes, promovendo maior percentual de germinação para estas espécies (YAMAUCHI et al., 2012). O tratamento com plasma frio favorece a molhabilidade em todo o tegumento de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. independentemente da micropila aberta ou fechada e conseqüentemente acelera a germinação (BORMASHENKO et al., 2015). Sementes de *Glycine max* L., tratadas com plasma a frio, apresentam efeito positivo na germinação, sem afetar o vigor das mesmas (LING et al., 2014). Sementes de *Triticum aestivum* L. tratadas com plasma não térmico, também reduzi o tempo de germinação, assim como melhora os parâmetros de crescimento da parte aérea e raiz das plântulas. Estes efeitos favoráveis são atribuídos a melhor molhabilidade das sementes após tratamento com plasma (DOBRIN et al., 2015). Também, observou-se aumento na porcentagem de emergência das sementes de *Leucaena leucocephala* Lam. quando tratadas com plasma DBD (GUIMARÃES et al., 2015). Sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth tratadas durante três minutos com plasma DBD, aumenta a germinação oito vezes maior que as sementes sem o tratamento e, à medida que se aumentava o tempo de exposição das sementes ao tratamento, resultava em maior molhabilidade do tegumento e, conseqüentemente, maior embebição (SILVA et al., 2017).

A tecnologia de plasma a frio mostra também potencialmente promissora para a inativação de microrganismo, incluindo células bacterianas, esporos e leveduras em produtos agrícolas (NIEMIRA, 2012). A inativação desses microrganismos pelo plasma

ocorre em função da ruptura da membrana celular pelos elétrons ou radiação UV, e/ou pela falta de oxigênio e presença de ozônio (TIWARI et al., 2010).

Sementes de *Triticum* sp. tratadas com plasma sob pressão atmosférica durante 3, 10 e 30 segundos, apresentam redução na formação de colônias fúngicas dos gêneros *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp. (KORDAS et al., 2015). A tecnologia do plasma gerado a partir do gás argônio mostra eficiente em reduzir a formação de colônias de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium lycopersici* em sementes de *Solanum lycopersicum* L., utilizando o tempo de 10 minutos de radiação (PANNGOM et al., 2014). A radiação com plasma apresenta eficiência em inibir a formação de colônias fúngicas de *Neurospora crassa* em todas as formas de aplicação utilizadas, não sendo havendo crescimento fúngico a partir de 60 segundos de exposição (NA et al., 2013).

Pesquisas têm apontado que o tratamento através do plasma durante 15 minutos reduziu a presença de *Aspergillus* sp. na superfície de sementes de trigo (*Triticum* sp.), cevada (*Hordeum* L.), aveia (*Avena* sp.), lentilha (*Lens culinaris* Medik), centeio (*Secale cereale* L.), milho (*Zea mays* L.) e grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) (SELCUK et al., 2008). O tratamento com jato de plasma reduziu potencialmente a carga microbiana presente em sementes de *Brassica napus* L., sem afetar a germinação e os parâmetros de crescimento de plântulas (PULIGUNDLA et al., 2017). O tratamento com plasma pode ser estabelecido como uma técnica eficiente para reduzir a contaminação de microrganismo presentes em sementes de *Allium cepa* L., *Raphanus sativus* L. e *Lepidium sativum* L. (BUTSCHER et al., 2016).

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; ALMEIDA, I. F.; CLEMENTE, A. C. S. Métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, 2007.
- ALVES JUNIOR, C. **Nitretação a plasma: fundamentos e aplicações**. Natal: EdUFRN, 2001, 109p.
- AZEVEDO, R. M.; SANTOS, H. O.; FERREIRA, R. A.; MARÇAL, R. M.; SILVA-MANN, R. Variabilidade genética em populações de *Erythrina velutina* Willd. por meio de isoenzimas. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 11, Supl. 1, p. S43-S51, 2013.
- BARBOSA, J. C. P. **Diagnóstico das espécies ativas do plasma usado em tratamentos termoquímicos do titânio**. 2011. 142p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.
- BASTOS, D. C. **Estudo da redução da hidrofobicidade de filmes biodegradáveis de amido de milho termoplástico com e sem reforço de fibra de bananeira através do tratamento por plasma de SF6**. 2010. 97 p Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- BORMASHENKO, E; SHAPIRA, Y.; GRZYNYO, R; WHYMAN, GENE; BORMASHENKO, Y; DROR, E. Interaction of cold radiofrequency plasma with seeds of beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 13 p. 4013-4021, 2015.
- BOULOS, M. I.; FAUCHAIS, P.; PFENDER, E. **Thermal plasma fundamentals and applications**. New York: Plenum Press, 1994. v. 1, p. 1-47.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p

BUTSCHER, D.; LOON, H. V.; WASKOW, A.; ROHR, P. R. V.; SCHUPPLER, M. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 222-232, 2016.

CARVALHO, A. T.; CARVALHO, A. M.; SILVA, M. L. P.; DEMARQUETTE, N. R.; ASSIS, O. B. G. Evaluation of organosilicon combined deposition for hydrophobic coatings of beans. In: MATTOSO, L. H. C.; LEÃO, A.; FROLLINI, E. **Natural polymers and composites IV**. São Carlos: EMBRAPA: USP; UNESP, 2002.

CHIANG, M. H.; WU, J. Y.; LI, Y. H.; WU, J. S.; CHEN, S. H.; CHANG, C. L. Inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* by a parallel-plate dielectric barrier discharge jet. **Surface and Coatings Technology**, v. 204, n. 21-22, p. 3729-3737, 2010.

CVELBAR, U.; KRSTULOVIC, N.; MILOSEVIC, S. Inductively coupled RF oxygen plasma characterization by optical emission spectroscopy. **Vacuum**, v. 82, n. 2, p. 224-227, 2008.

DHAYAL, M.; LEE, S. Y.; PARK, S. U. Using low-pressure plasma for *Carthamus stinctorium* L. seed surface modification. **Vacuum**, v. 80, n. 5, p. 499-506, 2006.

DOBRIN, D.; MAGUREANU, M.; MANDACHE, N. B.; IONITA, M. D. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. **Innovative Food Science e Emerging Technologies**, v. 29, p. 255-260, 2015.

DUBINOV, A. E.; LAZARENKO, E. R.; SELEMIR, V. D. Effect of glow discharge air plasma on grain crops seed. **IEEE Transactions on Plasma Science**, v. 28, n. 1, p. 180-183, 2000.

EDENHOFER, B. Physical and metalurgical aspects of ionitriding. **Heat treatment of metals**, parte 2, v. 2, p. 59-67, 1974.

ESCOLA DE SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ - ESALQ. **Trilhas da ESALQ**. Piracicaba: ESALQ, 2008. Disponível em: [<http://www.esalq.usp.br/trilhas/uteis/ut02.php>]. Acesso: 03 de outubro de 2017.

ESIBYAN, E. **Plasma-arcequipment**. Moscow: Mir Publishers, 1978. 151p.

GUIMARÃES, I. P.; ALVES JR, C.; TORRES, S. B.; VITORIANO, J. O.; DANTAS, N. B. L. DIÓGENES, F. E. P. Double barrier dielectric plasma treatment of leucaena seeds to improve wettability and overcome dormancy. **Seed Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 1-5, 2015.

JAMROZ, P., ZYRNICKI, W. Spectroscopic study of the decomposition process of tetramethylsilane in the N₂-H₂ and N₂-Ar low pressure plasma. **Diamond e Related Materials**, v. 14, n. 9, p. 1498-1507, 2005.

JIANG, J.; HE, X.; LI, L.; LI, J.; SHAO, H.; XU, Q.; YE, R.; DONG, Y. Effect of Cold Plasma Treatment on Seed Germination and Growth of Wheat. **Plasma Science and Technology**, v. 16, n.1, p. 54-58,2014.

KORACHI, M.; GUROL, C.; ASLAN, N. Atmospheric plasma discharge sterilization effects on whole cell fatty acid profiles of Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Journal of Electrostatics**, v. 68, n. 6, p. 508-512, 2010.

KORDAS, L.; PUSZ,W.; CZAPKA, T.; KACPRZYK, R.The effect of low-temperature plasma on fungus colonization of winter wheat grain and seed quality.**Polish Journal of Environmental Studies**, v. 24, n. 1, p. 433-438, 2015.

LIANG, Q.; HUANG, Q.; CAO, G.; YING, F.; LIU, Y.; HUANG, W. Study of Biological Effects of Low Energy Ion Implantation on Tomato and Radish Breeding. **Plasma Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 254, 2008.

LING, L.; JIAFENG, J.; JIANGANG, L.; MINCHONG, S.; XIN, H. E.; HANLIANG, S.; YUANHUA, D. Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1 p. 58-59, 2014.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v.2. 368p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544p.

MAJD, R.; AGHAIEL, P.; MONFARED, E. K.; ALEBRAHIM, M. T. Evaluating of Some Treatments on Breaking seed Dormancy in Mesquite. **International Journal of Agronomy and Plant Production**, v. 4, n. 7, p.1433-1439, 2013.

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

MASAFUMI, M. An efficient web search algorithm for mobile terminal International. **Journal of Latest Research in Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 465-469, 2013.

MASAFUMI, I.; TAKAYUKI, O.; MASARU, H. Plasma agriculture. **Journal of the Korean Physical Society**, v. 60, n. 6, p. 937-943, 2012.

MATOS, E.; QUEIROZ, L.P. **Árvores para cidade**. 1.ed. Ministério Público do Estado da Bahia. Salvador: Solisluna, 2009. 340p.

MIOLA, E. J. **Espectroscopia e difração de raios x aplicadas ao estudo de ferro e aço nitretados por plasma**. 2000. 159 p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade de São Paulo/Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2000.

MOISAN, M.; BARBEAU, J.; CREVIER, M.C.; PELLETIER, J.; PHILIP, N.; SAOUDI, B. Plasma sterilization: methods mechanisms. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 349-358, 2002.

NA, Y H.; PARK, G.; CHOI, E. H.; UHM, H. S. Effects of the physical parameters of a microwave plasma jet on the inactivation of fungal spores. **Thin Solid Films**, v. 547, p. 125-131, 2013.

NIEMIRA, B. A. Cold plasma reduction of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 on almonds using ambient pressure gases. **Journal of Food Science**, v.77, p. 171-175. 2012.

OLIVEIRA, R. F.; SOUTO, P.; CARNEIRO, N. Aplicação de descarga plasmática de dupla barreira dielétrica (DBD) em fibras têxteis hidrofóbicas - estudo de força colorística. **Redige**, v. 1, n. 1, p. 127-140, 2010.

PANNOM, K.; LEE, S. H.; PARK, D. H.; SIM, G. B.; KIM, Y. H.; UHM, H. S.; PARK, G.; CHO, E. H. Non-thermal plasma treatment diminishes fungal viability and up-regulates resistance genes in a plant host. **Plos one**, v. 9, n. 6, p. 99300, 2014.

PULIGUNDLA, P.; KIM, J.; MOK, C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus*L.) seeds. **Food Control**, v. 71, p.376-382, 2017.

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: Editora Universitária da UEFS, 2009. 443p.

RIBEIRO, R. C.; MATIAS, J. R.; PELACANI, C. R.; DANTAS, B. F. Activity of antioxidant enzymes and proline accumulation in *Erythrina velutina* Willd. Seeds subjected to abiotic stresses during germination. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 2, p. 231–239, 2014.

ROTH, J. R. **Industrial plasma engineering**: principles. Filadélfia:Bristol: Institute of Physics Publishing,1995. v. 1.538p.

SANTOS, L. W.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; SILVA, R. C. P.; CÂNDIDO, W. S.; SILVA, A. C. Armazenamento e métodos para a superação da dormência de sementes de mulungu. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 171-178, 2013.

SELCUK, M.; OKSUZ, L.; BASARAN, P. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. By cold plasma treatment. **Journal of Biotechnology**, v. 99, n. 11, p.5104-5109, 2008.

SERÁ, B.; STRANAK, V.; SERY, M.; TICHY, M.; SPATENKA, P. Germination of *Chenopodium Album* in Response to Microwave Plasma Treatment. **Plasma Science and Technology**, v. 10, n. 4, p. 506-511, 2008.

SILVA, A. R. M.; FARIAS, M. L.; SILVA, D. L. S.; VITORIANO, J. O.; SOUSA, R. C. ALVES-JUNIOR, C. Using atmospheric plasma to increase wettability, imbibition and germination of physically dormant seeds of *Mimosa caesalpiniaefolia*. **Colloids and Surfaces: Biointerfaces**. v. 157,p. 280-285, 2017.

SILVA, R. C. L.; ALVES, C.; NASCIMENTO, J. H.; NEVES, J. R. O.; TEIXEIRA, V. Surface Modification of Polyester Fabric by Non-Thermal Plasma Treatment. **Journal of Physics**, v. 406, p .12-17, 2012.

SONG, H. P.; KIM, B.; CHOE, J. H.; JUNG, S.; MOON, S.Y.; CHOE, W.; JO, C. Evaluation of atmospheric pressure plasma to improve the safety of sliced cheese and ham inoculated by 3-strain cocktail *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**, v. 26, n. 4, p. 432-436, 2009.

SURESHKUMAR, A.; SANKAR, R.; MANDAL, M.; NEOGI, S. Effective bacterial inactivation using low temperature radio frequency plasma. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 396, n. 1–2, p. 17-22, 2010.

TIWARI, B. K.; BRENNAN, C. S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P.J.; DONNELL, C. P. O. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.

VIRTUOSO, S.; DAVET, A.; DIAS, J. F. G.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M. D.; OLIVEIRA, A. B.; MIGUEL, O. G. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p.137-142. 2005.

WILD, S.; KESMODEL, L. L. High resolution electron energy loss spectroscopy investigation of plasma-modified polystyrene surfaces. **Journal of Vacuum Science e Technology**, v. 19, n. 3, p. 856-860, 2001.

YAMAUCHI, Y.; KUZUYA, M.; SASAI, Y.; KONDO, S. Surface treatment of natural polymer by plasma technique - promotion of seed germination. **Journal of Photopolymer Science and Technology**, v. 25, n. 4, p. 535-538, 2012.

YIN, M. Q.; HUANG, M. G.; MA, B. Z.; MA, T. C. Stimulating effects of seed treatment by magnetized plasma on tomato growth and yield. **Plasma Science and Technology**, v. 7, n. 6, p. 3143-3147, 2005.

ZUCOLOTTO JUNIOR, C. G. **Geração de hidrogênio e negro de fumo pela pirólise do gás natural utilizando uma tocha de plasma**. 2006. 79 p. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal do Espírito, Vitória, 2006.

CAPÍTULO 2

INATIVAÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DE SEMENTES DE *E. velutina* Willd. POR MEIO DA UTILIZAÇÃO DE PLASMA ATMOSFÉRICO

RESUMO

No presente estudo, objetivou-se avaliar o efeito do plasma na inativação de fungos presentes na superfície de sementes de *E. velutina* Willd. em colônias fúngicas isoladas. Para isso, foram realizados dois experimentos; o primeiro, o plasma foi aplicado nas sementes utilizando os gases hélio e atmosférico por 3, 6 e 9 minutos para cada um. O segundo, as placas contendo o inóculo de cada fungo receberam os tratamentos com o plasma produzido por descarga de gás atmosférico (Ar-3, Ar-6 e Ar-9), comparados com os fungos contidos nas placas de Petri sem tratamento (testemunha). O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi o inteiramente casualizado, sendo sete tratamentos com cinco repetições no primeiro experimento e quatro tratamentos com cinco repetições no segundo experimento. A porcentagem de incidência de fungos e as médias do número de ufc.mL¹ foram submetidas à análise de variância e para comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.6 beta. A aplicação de plasma com gás atmosférico proporcionou efeito antimicrobiano para os organismos *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium* sp., *Brachysporium* sp. e *Rhizopus* sp. em sementes de *E. velutina*, tratadas por nove minutos. A formação de colônias de fungos isoladas em sementes de *E. velutina* foi inibida pela aplicação de plasma com gás atmosférico a partir de três minutos de exposição.

Palavras-chave: Fitopatógenos. Microrganismos. Mulungu

INACTIVATION OF ISOLATED FUNGI OF SEEDS OF *E. velutina* Willd. THROUGH ATMOSPHERIC PLASMA TECHNOLOGY

ABSTRACT

In the present study, the objective was to evaluate the effect of plasma on inactivation of fungi present on surface of *E. velutina* Willd seeds in isolated fungal colonies. For this, two experiments were carried out; in the first one, plasma was applied to seeds using helium and atmospheric gases for 3, 6, and 9 minutes to each one. In the second, inoculum plates of each fungus were treated with plasma produced by the discharge of atmospheric gas (Ar-3, Ar-6 and Ar-9), compared to the fungi contained in the untreated Petri dishes (control). The experimental design was a completely randomized, with seven treatments with five replicates in the first experiment, and four treatments with five replicates in the second experiment. The percentage of fungi incidence and the averages of number of ufc.mL¹ were submitted to analysis of variance and for comparison of means was used the Tukey test at 5% of probability, using statistical software Assistat version 7.6 beta. Application of plasma with atmospheric gas promoted an antimicrobial effect for organisms *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium* sp., *Brachysporium* sp. and *Rhizopus* sp. in *E. velutina* seeds, treated for nine minutes. Formation of colonies of isolated fungi on *E. velutina* seeds was inhibited by application of plasma with atmospheric gas from the three minutes of exposure.

Key words: Phytopathogens. Microorganisms. Mulungu.

1 INTRODUÇÃO

E. velutina é uma espécie pertencente a família Fabacea, ocorre na Caatinga e apresenta grande resistência à seca, rusticidade e rápido crescimento. Conhecida populamente como mulungu, suinã, bico-de-papagaio, canivete, corticeira e sananduva, e pode ser utilizada para diversos fins como cerca viva, recuperação de áreas degradadas, paisagismo, artesanato, além do uso em produtos medicinais (VIRTUOSO et al., 2005; LORENZI; MATOS, 2008).

Lotes de sementes contaminados por fungos poderão ser eliminados por não atingirem índices satisfatórios de germinação, diminuindo a oferta de sementes no mercado. Este fato se torna ainda mais preocupante quando se trata de sementes florestais, pois a ocorrência de sazonalidade na produção destas espécies é, normalmente, verificada em determinados anos. Portanto, torna-se necessário conhecer os agentes patogênicos e os métodos de controle (BRASIL, 2009).

Apesar da grande importância da *E. velutina*, especialmente para o bioma Caatinga, existem problemas que podem limitar a produção de mudas em grande escala, sendo a contaminação por fungos durante o armazenamento das sementes um destes. A presença desses microrganismos pode reduzir a capacidade germinativa das sementes assim como proporcionar o aumento de plântulas anormais, com isso, resultando em dificuldades na interpretação dos resultados dos testes de germinação (SELCUK et al., 2008).

Entre as medidas de controle de fungos em sementes, o controle químico é o método mais comum, no entanto, este apresenta perigo de contaminação ao meio ambiente e é tóxico aos homens e animais, além do custo e problemas relacionados com a resistência dos patógenos (DHAYAL et al., 2006; TREBBI et al., 2007).

O uso de tecnologia limpa tem sido amplamente estudado na agricultura moderna, sendo a utilização do plasma um dos meios para este fim. O plasma é uma mistura de fótons (UV, Vis, e IV), elétrons, partículas carregadas negativamente e positivamente, radicais, átomos e moléculas neutras (ROTH, 1995), também denominado de descarga elétrica, descarga gasosa ou descarga luminescente. O uso deste agente pode substituir o tratamento químico usado em sementes armazenadas. Esta tecnologia é vantajosa por ser aplicada em baixa temperatura, gerado em descarga por barreira dielétrica (DBD) e processamento em curto tempo (MASAFUMI, 2013), a

baixo e ainda é ecologicamente correto, tornando-se um meio inovador para melhorar a qualidade e rendimento das culturas (JIANG et al., 2014).

O plasma consiste basicamente na aplicação de uma diferença de potencial entre dois eletrodos imersos em gás, dos quais são gerados elementos químicos, como íons, elétrons, partículas neutras, energéticas e radicais, além da radiação ultravioleta. Esses elementos atuam como inativadores de microrganismo através de agente anti-oxidante causando dano e morte celular (LAROUSSI; LEIPOLD, 2004; FRIDMAN et al., 2008; ZHANG et al., 2012; VON et al., 2013).

Tem sido realizadas algumas pesquisas com a aplicação do plasma, como a de Young et al. (2014) com sementes de *Oryza* sp.; Kordas et al. (2015) com sementes de *Triticum* sp.; Dasan et al. (2016) com sementes de *Corylus avellana*. Butscher et al. (2016) com sementes de *Allium cepa*, *Raphanus sativus* e *Lepidium sativum* e Puligundla et al. (2017) com sementes de *Brassica napus*.

No presente estudo, objetivou-se avaliar o efeito do jato de plasma visando à inativação de fungos na superfície de sementes de *E. velutina* e em colônias fúngicas isoladas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Microbiologia e Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias (CCA) e no de Plasma Aplicado do Centro de Ciências Exatas e Naturais (CCEN), ambos pertencentes à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

As sementes de *E. velutina* foram procedentes de árvores existentes no assentamento Padre Alfredo, Crateús, CE (05° 10' 42" S, 40° 40' 39" W e 274m de altitude), que durante o beneficiamento manual, excluiu-se as danificadas por insetos, chochas e partidas. Em seguida foram homogeneizadas através do homogeneizador tipo Gamet e armazenadas em câmara fria (10 °C e 50% de UR).

Para os jatos de plasma atmosférico por descarga de barreira dielétrica (DBD), utilizou-se pulsos de voltagem de 9 kV, repetidos em frequência de 640 Hz (Figura 1). Os experimentos foram divididos em duas etapas: Experimento I – plasma diretamente sobre a superfície das sementes; Experimento II – plasma aplicado direto nas colônias de fungos, isoladas das sementes.

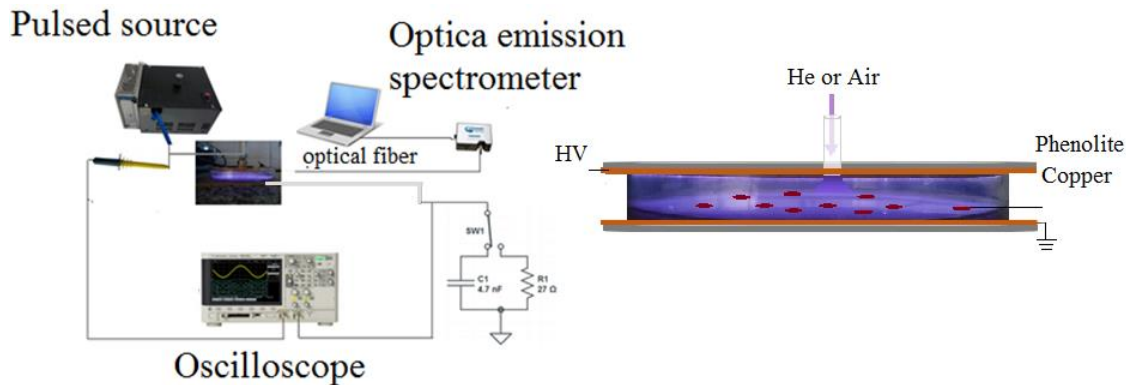


Figura 1 – Aparato experimental para tratamento das sementes por jato de plasma atmosférico de descarga por barreira dielétrica (DBD). UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Experimento I

O tratamento consistiu na aplicação de plasma sobre as sementes de *E. velutina* durante os períodos pré-estabelecidos.

Para cada experimento, utilizou-se 50 sementes distribuídas em cinco repetições de 10 sementes. Inicialmente, as sementes foram colocadas em placas de Petri de 20 cm

de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) autoclavado a 120 °C por 30 minutos Além da testemunha (sementes não tratadas), utilizou-se seis condições diferentes de tratamento (Tabela 1).

Tabela 1 – Condições experimentais dos tratamentos com plasma. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Tratamento	Plasma (Gás)	Tempo (minuto)
Testemunha	-	-
He-3	Hélio	3
He-6	Hélio	6
He-9	Hélio	9
Ar-3	Ar atmosférico	3
Ar-6	Ar atmosférico	6
Ar-9	Ar atmosférico	9

Após a aplicação de plasma, as placas de Petri com as sementes foram mantidas em estufa do tipo Demanda Biológica de Oxigênio (B.O.D.) por sete dias, à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ no escuro, para propiciar o desenvolvimento dos fungos não eliminados pelos tratamentos. Para a avaliação da incidência e identificação dos fungos, utilizou-se microscópios estereoscópico e óptico e chave de identificação (BARNETT; HUNTER, 1998).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. As médias das porcentagens de incidência dos fungos foram submetidas ao teste de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Assist, versão 7,6 beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).

Experimento II

Para a obtenção dos isolados fúngicos, as sementes de *E. velutina* foram colocadas sobre meio de cultura BDA em placas de Petri, e mantidas em estufa tipo B.O.D. por sete dias à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ no escuro, para favorecer o desenvolvimento dos fungos. Os isolados fúngicos foram purificados e preservados pelo

método de Castellani (CASTELLANI, 1939 apud FIGUEIREDO,1967) e mantidos sob refrigeração a 5 ± 2 °C.

Para obtenção do inóculo, discos de 7 mm de meio de cultura BDA, contendo crescimento micelial de cada isolado fúngico, foram transferidos dos tubos de Castellani, para o centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA e mantidos em estufa tipo B.O.D. por sete dias à temperatura de 26 ± 2 °C no escuro, para favorecer o desenvolvimento dos isolados fúngicos.

Após o total desenvolvimento das colônias fúngicas que foram transferidas dos tubos de Castellani, preparou-se uma suspensão de inóculo, adicionando-se 10 mL de água destilada esterilizada, contendo 0,1 mL de Tween 20, em cada placa de Petri, procedendo-se de uma raspagem superficial com auxílio de uma alça de Drigalski flambada. A suspensão obtida foi filtrada em dupla camada de gaze esterilizada para obtenção somente de conídios (Deuteromicotina) e oósporos (zigomicotina), sendo submetida à diluição seriada e plaqueada para facilitar a contagem (de 30 a 300 ufc.mL⁻¹). Em seguida, 0,1 mL desta diluição foi distribuída uniformemente, com auxílio de uma alça de Drigalski flambada, sobre a superfície de placas de Petri contendo meio de cultura BDA.

As placas contendo o inóculo de cada fungo, obtidos de sementes de *E. velutina* receberam os tratamentos com o plasma gerado a partir de gás atmosférico durante 3, 6 e 9 minutos, comparados com os fungos contidos nas placas de Petri sem tratamento (testemunha).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos (Testemunha, Ar-3, Ar-6 e Ar-9) e cinco repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. Os parâmetros do plasma foram os mesmos utilizados no tratamento das sementes, ou seja, picos de tensão 9 kV, repetidos na frequência de 640 Hz. Foi feita caracterização química do plasma, realizada através da técnica de Espectroscopia de Emissão Óptica (OES).

Após a aplicação dos tratamentos, as placas foram mantidas em estufa tipo B.O.D. e observadas diariamente até o aparecimento das colônias por 3 a 7 dias, dependendo do isolado fúngico, à temperatura de 26 ± 2 °C no escuro. As colônias fúngicas foram contadas e calculadas em unidades formadora de colônias por mL (ufc.mL⁻¹) na suspensão inicial.

As médias do número de ufc.mL⁻¹ foram submetidas à análise de variância e para comparação destas foi empregado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade,

utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.6 beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento I

O tratamento de sementes com plasma de ar atmosférico por nove minutos proporcionou menor porcentagem de crescimento fúngico, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos e da testemunha (Tabela 2).

Tabela 2–Presença de fungos em sementes de *Erythrina velutina* Willd. após tratamento com plasma de descarga por barreira dielétrica, aplicados por 3, 6 e 9 min. com os gases hélio (He-3, He-6 e He-9) e atmosférico (Air-3, Air-6 e Air-9). UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Tratamentos	(%) de sementes com fungos
Testemunha	98,00 a
He-3	98,00 a
He-6	94,00 a
He-9	94,00 a
Ar-3	98,00 a
Ar-6	96,00 a
Ar-9	80,00 b
C.V.	6,71

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

A inativação desses microrganismos pelo plasma ocorre possivelmente em função da ruptura da membrana celular pelos elétrons ou radiação UV, e/ou por asfixia pela presença de ozônio (TIWARI et al., 2010) que pode causar danos as células e morte celular (LAROUSSE; LEIPOLD, 2004; FRIDMAN et al., 2008; ZHANG et al., 2012; VON et al., 2013).

Os resultados obtidos sugerem que o ozônio teve maior participação na inativação dos fungos, uma vez que esta foi a principal diferença entre os tipos de atmosfera. Embora não havendo diferença estatística, verifica-se que houve tendência de redução do crescimento fúngico em função do tempo de tratamento (Figura 2). Em outro estudo o jato de plasma à pressão atmosférica mostrou-se eficiente em reduzir o crescimento de três espécies de microrganismos (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*), sendo os tratamentos constituídos com maiores tempos de exposição

(150 e 180 segundos), foram responsáveis por maiores efeitos; sendo o ozônio também surgerido como principal agente de inativação (NISHIME et al., 2017).

O plasma gerado apartir do gás atmosférico libera maiores quantidades de ozônio e este é eficiente no controle de insetos e fungos de grãos armazenados (MENDEZ et al., 2003; PEREIRA et al., 2008). A utilização do gás ozônio durante 60 minutos, também reduziu a população de *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. em sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) (RODRIGUES et al., 2015). O efeito direto da radiação do plasma sobre os fungos nas sementes de *E. velutina* pode ser visualizado na Figura 2.

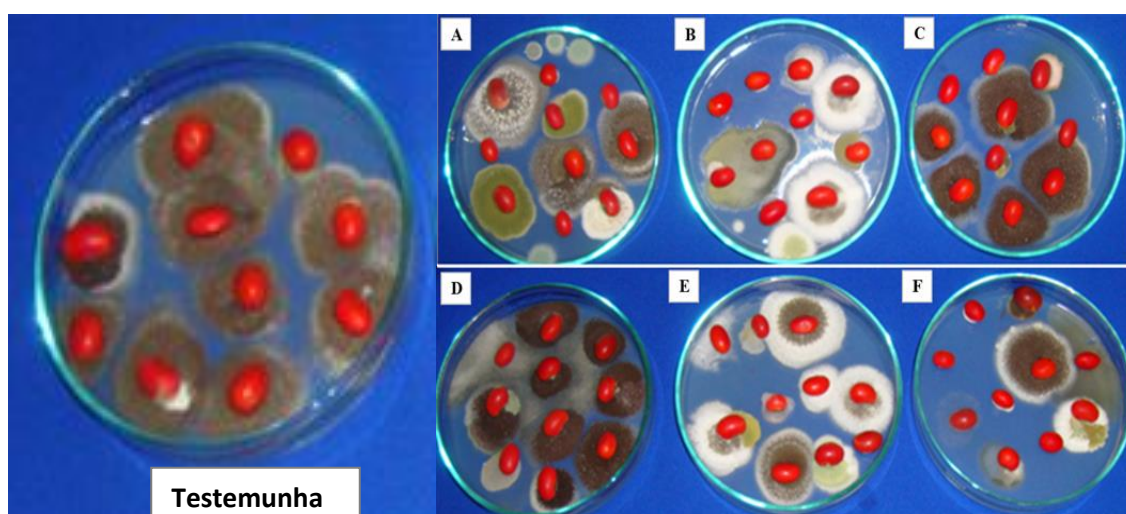


Figura 2- Crescimento de micélio fúngico em sementes de *Erythrina velutina* Willd. após tratamento de plasma de descarga por barreira dielétrica. A, B e C = aplicação de gás hélio por 3, 6 e 9 min., respectivamente; D, E e F = aplicação de gás atmosférico por 3, 6 e 9 minutos respectivamente. UFRSA, Mossoró/RN, 2017.

Os fitopatógenos normalmente associados às sementes podem estar aderidos à superfície ou nas camadas mais superficiais do endosperma ou no embrião (BRASIL, 2009). Desta forma, tratamentos que atinjam somente a superfície podem não ter boa efetividade na eliminação de patógenos, como ocorre com o tratamento com o plasma DBD, que atua até a profundidade de alguns nanômetros (KEEN et al., 2006).

Experimento II

Os fungos encontrados nas sementes foram *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium* sp., *Brachysporium* sp. e *Rhizopus* sp., que se desenvolveram após os tratamentos estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Incidência de fungosem sementes de *Erythrina velutina* Willd. tratadas com plasma de descarga por barreira dielétrica, a partir dos gases hélio (He) e atmosférico (Ar) aplicados por 3, 6 e 9 minutos. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

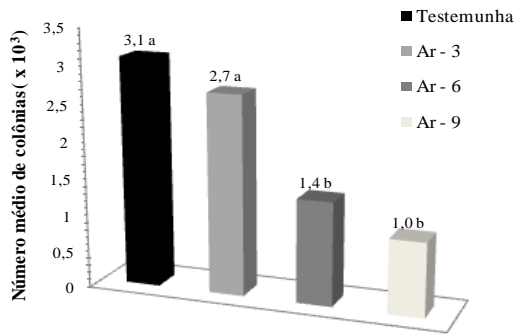
Tratamento	Fungos (%)				
	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Brachysporium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
Testemunha	68	18	6	2	6
He-3	60	14	2	2	10
He-6	50	4	2	20	8
He-9	50	26	2	6	-
Ar-3	66	4	4	10	10
Ar-6	20	8	8	44	12
Ar-9	42	10	8	-	-

Em sementes tratadas com plasma, gerado a partir do gás atmosférico, durante 6 minutos (Ar-6) ocorreu menor presença do *Aspergillus niger* e crescimento principal do *Brachysporium* sp., que também teve maior infestação nas sementes tratadas com plasma, gerado a partir do gás hélio, durante 6 minutos (He-6). A eficiência do plasma como inativador de microrganismos, também depende de fatores biológico, como espécie, grau de infestação e fase de desenvolvimento do microrganismo (MISRA et al., 2011).

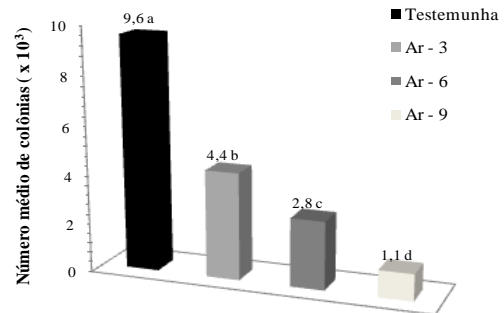
Pesquisa com tratamento com plasma durante 15 minutos, reduziu a presença de *Aspergillus* sp. (ufc.g⁻¹) na superfície de sementes de trigo (*Triticum* sp.), cevada (*Hordeum* sp.), aveia (*Avena* sp.), lentilha (*Lens culinaris*), centeio (*Secale cereale*), milho (*Zea mays*) e grão-de-bico (*Cicer arietinum*) (SELCUK et al., 2008). Também, verificou-se redução do número de propágulos de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium* e *Rhizopus* em sementes de trigo tratadas com plasma durante 10 segundos, cuja redução foi mais acentuada para fungos dos gêneros *Fusarium* e *Rhizopus* (KORDAS et al., 2015).

Nota-se que a utilização de plasma tem sido uma alternativa promissora na descontaminação de diversos tipos de microrganismos. E, para ampliar ainda mais a sua aplicação, são utilizados diferentes tipos e combinações de gases, no entanto, o atmosférico (Ar) pode ser uma opção prática e econômica, já que tem demonstrado eficiência para essa finalidade (NISHIME et al., 2017).

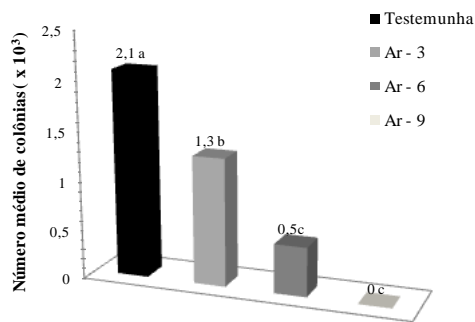
Com a aplicação do plasma sobre os conídios e oósporos dos fungos houve redução nas unidades formadoras de colônias (ufc) para todos os fungos avaliados (Figura 3).



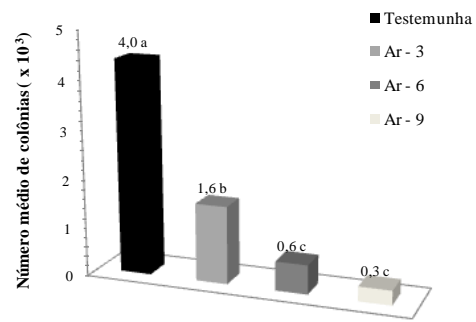
Ufc.mL⁻¹*Aspergillus niger*. (A)



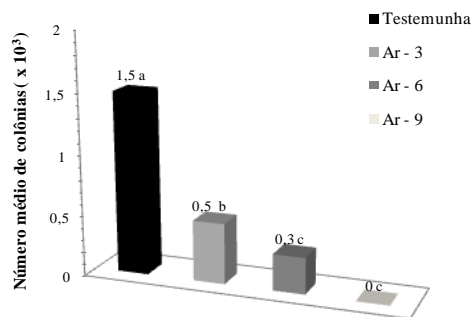
Ufc.mL⁻¹*Aspergillus flavus*. (B)



Ufc.mL⁻¹*Fusarium* sp. (C)



Ufc.mL⁻¹*Brachysporium* sp. (D)



Ufc.mL⁻¹*Rhizopus* sp. (E)

Figura 3- Unidade formadora de colônias por mL (ufc.mL⁻¹) de fungos isolados de sementes de *Erythrina velutina* Willd., após o tratamento com plasma de descarga por

barreira dielétrica, a partir de gás atmosférico aplicado por 3, 6 e 9 minutos (Ar-3), (Ar-6) e (Ar-9), respectivamente. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Os tratamentos durante 6 e 9 minutos. com gás atmosférico (Ar-6 e Ar-9) proporcionaram maior redução das ufc do *A.niger*, diferindo estatisticamente da testemunha e do tratamento durante 3 minutos com gás atmosférico (Ar-3), (Figura 3A). Os fungos *A. flavus* e *Brachysporium* sp. tiveram redução das ufc com o aumento do tempo de exposição ao plasma, diferenciando estatisticamente a partir do tratamento Ar-3 (Figura 3 B e D). Os fungos *Fusarium* sp. e *Rhizopus* sp. foram eliminados completamente por meio do tratamento Ar-9 (Figura 3 C e E).

A inibição do número de micélios fungico após os tratamentos com plasma podem ser visualizados na Figura 4.

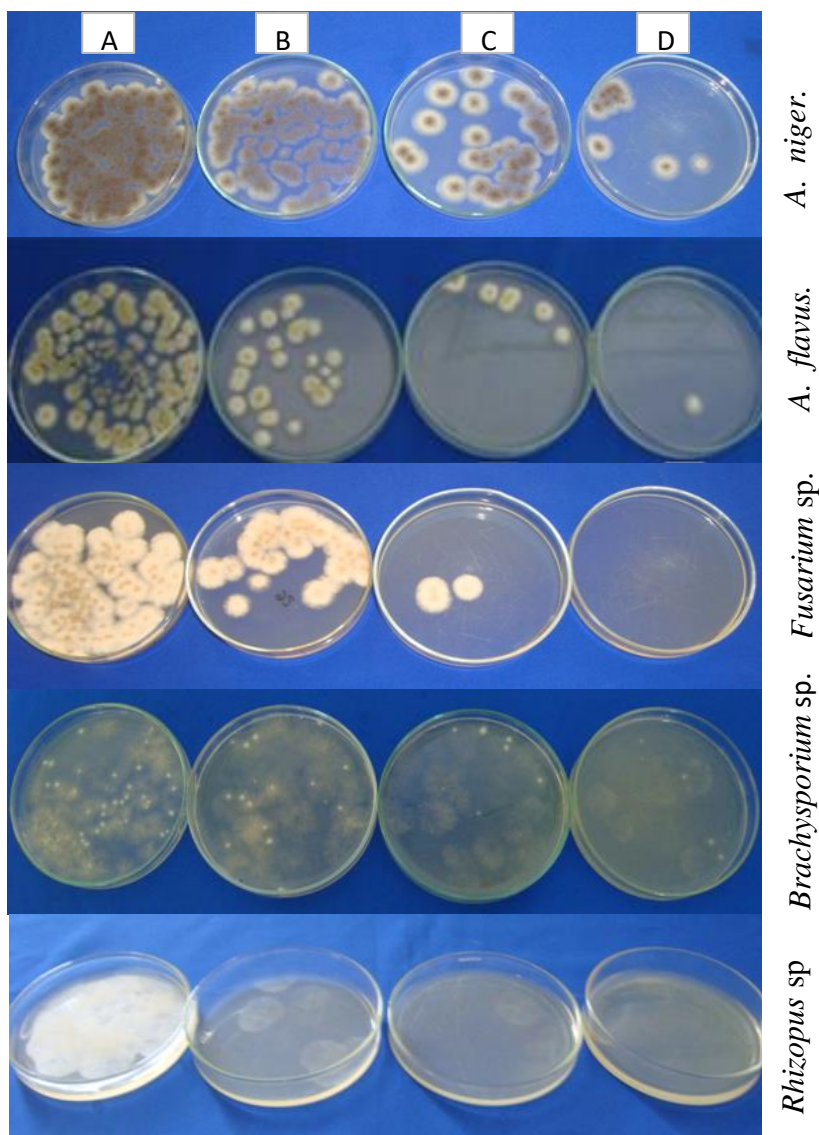


Figura 4 - Número de micélios fúngico, isolado em sementes de *Erythrina velutina* Willd., após tratamento com plasma com gás atmosférico. A =Testemunha; B = 3 min.; C = 6 min.; D = 9 min. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Em outros estudos foram demonstrados que esporos de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* foram eliminados a partir de 2 minutos com aplicação de plasma em sementes de avelã (*Corylus avellana*) (DASAN et al., 2016). A tecnologia do plasma atmosférico, também, mostrou-se eficiente em reduzir a formação de esporos de *Fusarium oxysporum* a partir de 1 minuto de tratamento (YOUNG et al., 2014). Selcuk et al. (2008) verificaram que houve diminuição significativa na infestação de *Aspergillus* sp. em superfície de grãos de trigo, cevada, aveia, lentilha, centeio, milho e grão-de-bico utilizando o plasma gerado a partir do gás atmosférico.

O plasma é um gás parcialmente ionizado, contendo moléculas, elétrons, íons, átomos e radicais livres, que podem atuar como inativadores em uma ampla gama de microrganismos, incluindo os esporos e conídios (LEE et al., 2006). Vários tipos de íons, radicais, elétrons, raios ultravioleta presentes no plasma, contribuem para os efeitos antimicrobianos (SHINTANI et al., 2010).

A Figura 5 expõe o espectro de emissão óptica do plasma utilizado. Nesta, verifica-se os picos de emissão das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, em especial as hidroxilas, ozônio, radicais de oxigênio e nitrogênio. De acordo com a literatura, espécies como ozônio, radicais OH, elétrons, além da radiação UV, são os principais inativadores dos fungos. (SCHOLTZ et al., 2015).

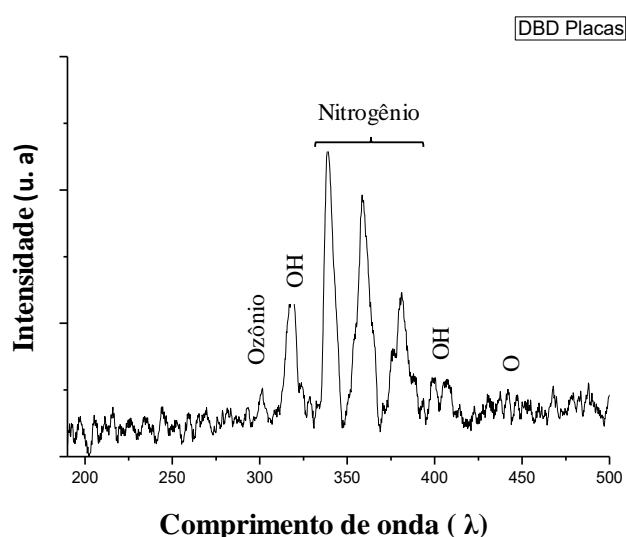


Figura 5 - Espectroscopia de Emissão Óptica de plasma produzido a partir do gás atmosférico. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

A eficiência do plasma não térmico no controle de microrganismo também foi verificado por Fletcher et al. (2007), com bactérias; Korachi et al.(2009), com *Aspergillus niger*; Kim et al. (2015) com *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurii*.

Selcuk et al. (2008) com *Aspergillus* e *Penicillium*; Na et al. (2013), com *Neurospora crassa*, *Fusarium graminearum* e *Fusarium oxysporum*; Jo et al. (2014) verificaram a redução na formação de colônias de *Gibberella fujikuroi*; Panngom et al. (2014) constatam a inativação de *Fusarium oxysporum*. e Ji et al. (2015) constaram o mesmo para os microrganismos presentes em água.

4 CONCLUSÃO

A aplicação de plasma com gás atmosférico proporciona efeito antimicrobiano para os fungos *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium* sp., *Brachysporium* sp. e *Rhizopus* sp. em sementes de *E. velutina*, tratadas por nove minutos;

A formação de colônias de fungos isolado de sementes de *E. velutina* é inibida pela aplicação de plasma com gás atmosférico a partir de três minutos de exposição.

REFERÊNCIAS

- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated general of imperfect fungi**. 4 ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1998. 218p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009.395p.
- BUTSCHER, D.; LOON, H. V.; WASKOW, A.; ROHR, P. R. V.; SCHUPPLER, M. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 222-232, 2016.
- DASAN, B. G.; MUTLU, M.; BOYACI I. H. Decontamination of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* spore sonhazelnuts via atmospheric pressure fluidized bed plasma reactor. **International Journal of Food Microbiology**, v. 216, n. 4, p. 50-59, 2016.
- DHAYAL, M.; LEE, S. Y.; PARK, S. U. Using low-pressure plasma for *Carthamus tinctorium* L. seed surface modification. **Vacuum**, v. 80, n. 5, p. 499-506, 2006.
- FIGUEIREDO, M. B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. **O Biológico**, v. 33, n. 1, p. 9-13, 1967.
- FLETCHER, L. A.; GAUNT, L. F.; BEGGS, C. B.; SHEPHERD, S. J.; SLEIGH, P. A.; NOAKES, C. J. Bactericidal action of positive and negative ions in air. **BMC Microbiology**, v. 7, n. 32, 2007.
- FRIDMAN, G.; FRIEDMAN, G.; GUTSOL, A.; SHEKHTER, A.B.; VASILETS, V. N.; FRIDMAN, A. Applied plasma medicine. **Plasma Processes and Polymers**, v. 5, n. 6, p. 503-533, 2008.
- JIANG, J.; HE, X.; LI, L.; LI, J.; SHAO, H.; XU, Q.; YE, R.; DONG, Y. Effect of Cold Plasma Treatment on Seed Germination and Growth of Wheat. **Plasma Science and Technology**, v. 16, n.1, p. 54-58, 2014.

JIE S.; QIANG S.; ZELONG Z.; CHENG C.; YAN L.; HAO Z.; ZIMU X.; YING Z.; WEIDONG X.; PAUL K. C. Characteristics of DC gas-liquid phase atmospheric-pressure plasma and bacteria inactivation mechanism. **Plasma Processes and Polymers**, v 12, n. 3, p 252-259, 2015.

JO, Y. K., J.; CHO, J.; C.TSAI, T.; STAACK, D.; KANG, M.; ROH, J.; R.;SHIN, D.; CROMWELL, W.; GROSS, D. Anon-thermal plasma seed treatment method for management of a seed borne fungal pathogen on rice seed. **Crop Science**, v. 54, n. 2, p. 796-802, 2014.

KEEN, I.; BROOTA, O.; RINTOUL, L.; FREDERICKS, P.; TRAU, M.; GRONDAHL, L. Introducing amine functionalities on a poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) surface: comparing the use of ammonia plasma treatment and ethylenediamine aminolysis. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 2 p. 427-434, 2006.

KIM, B.; YUN, H.; JUNG, S.; JUNG, Y.; JUNG, H.; CHOE, W. Y.; JO, C. H. Effect of atmospheric pressure plasma on inactivation of pathogens inoculated onto bacon using two different gas compositions. **Food Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 9-13, 2015.

KORACHI, M.; TURAN, Z.; SENTURK, K.; SAHIN, F.; ASLAN, N. An investigation into the biocidal effect of high voltage AC/DC atmospheric corona discharges on bacteria, yeasts, fungi and algae. **Journal of Electrostatics**, v. 67, n. 4, p. 678-685, 2009.

KORDAS, L.; PUSZ, W.; CZAPKA, T.; KACPRZYK, R. The effect of low-temperature plasma on fungus colonization of winter wheat grain and seed quality. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 24, n. 1, p. 433-438, 2015.

LAROUSSI, M.; LEIPOLD, F. Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 233, n. 3, p. 81-86, 2004.

LEE, K.; PAEK, K. H.; JU, W. T.; LEE, Y. Sterilization of bacteria, yeast, and bacterial endospores by atmospheric-pressure cold plasma using helium and oxygen. **Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 269-275, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544p.

MASAFUMI M. An efficient web search algorithm for mobile terminal International. **Journal of Latest Research in Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 465-469, 2013.

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, n. 1, p.33-44, 2003.

MISRA, N. N.; TIWARI, B. K.; RAGHAVARAO, K. S. M. S.; CULLEN, P. J. Non-thermal plasma inactivation of food-borne pathogens. **Food Engineering Reviews**, v. 3 n. 4, p. 159-170, 2011.

NA, Y. H.; PARK, G.; CHOI, E. H.; HUM, H. S. Effects of the physical parameters of a microwave plasma jet on the inactivation of fungal spores. **Thin Solid Films**, v. 547, n. 29, p. 125-131, 2013.

NISHIME, T. M. C.; BORGES, A. C.; KOGA-ITO, C. Y.; MACHIDA, M.; HEIN, L. R. O.; KOSTOV, K. G. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms. **Surface e Coatings Technology**, v. 312, p. 19-24, 2017.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SILVA JUNIOR, A.G.; SOUZA, A.H.; PAES, J. L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Engenharia na Agricultura**, v. 16, n. 2, p. 144-154, 2008.

PANNINGOM, K.; LEE, S. H.; PARK, D. H.; SIM, G. B.; KIM, Y. H.; UHM, H. S.; PARK, G.; CHOI, E. H. Non-thermal plasma treatment diminishes fungal viability and up-regulates resistance genes in a plant host. **Plos one**, v. 9, n. 6, p. 1-12, 2014.

PULIGUNDLA, P.; KIM, J.; MOK, C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds. **Food Control**, v. 71, p. 376-382, 2017.

RODRIGUES, V. O.; COSTA, F. R.; NERY, M. C.; CRUZ, S. M.; MELO, S. G. F.; CARVALHO, M. L. M. Treating sunflower seeds subjected to ozonization. **Journal of Seed Science**, v. 37, n. 3, p. 202-210, 2015.

ROTH, J. R. **Industrial plasma engineering**: principles. Filadélfia: Instituto de Física de Bristol, 1995. v. 1. 339p.

SELCUK, M.; OKSUZ, L.; BASARAM, P. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment, v. 99, n. 11, p. 5104-5109. 2008.

SCHOLTZ, V.; PAZLAROVA, J.; SOUSKOVA, H.; KHUN, J.; JULAK, J. Nonthermal plasma tool for decontamination and disinfection. **Biotechnology Advances**, v. 3, n. 6, p. 1108-1119, 2015.

SHINTANI, H.; SAKUDO, A.; BURKE, P.; MCDONNELL, G. Gas plasma sterilization of microorganisms and mechanisms of action. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 1, n. 5, p. 731-738, 2010.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 7 Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

TIWARI, B. K.; BRENNAN, C. S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P. J.; DONNELL, C. P. O. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.

TREBBI, G.; BORGHINI, F.; LAZZARATO, L.; TORRIGIANI, P.; CALZONI, G. L.; BETTI, L. Extremely low frequency weak magnetic fields enhance resistance of NN

tobacco plants to tobacco mosaic virus and elicit stress-related biochemical activities. **Bioelectromagnetics**, v. 28, n. 3, p. 214–223, 2007.

VIRTUOSO S, D. A.; DIAS, J. F. G.; CUNICOM, M. M.; MIGUEL, M. D.; OLIVEIRA, A. B.; MIGUEL, O. G. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p.137-142, 2005.

VON, W. T.; REUTER, S.; MASUR, K.; WELTMANN, K. D. Plasmas for medicine. **Physics Reports**, v. 530, n. 4, p. 291-320, 2013.

YOUNG, K., J.; CHO, J.; C.; TSAI, T.; STAACK, D.; KANG, M.; ROH, J.; R.; SHIN, D.; CROMWELL, W.; GROSS, D. Anon-thermal plasma seed treatment method for management of a seed borne fungal pathogen on rice seed. **Crop Science**, v. 54, n. 2, p. 796-802, 2014.

ZHANG, Q.; SUN, P.; FENG, H.; WANG, R.; LIANG, Y.; ZHU, W.; BECKER, K. H.; ZHANG, J.; FANG, J. Assessment of the roles of various inactivation agents in an argon-based direct current atmospheric pressure cold plasma jet. **Journal of Applied Physics**, v. 111, n. 12, p. 1-6, 2012.

CAPÍTULO 3

UTILIZAÇÃO DO PLASMA DE DESCARGA POR BARREIRA DIELÉTRICA (DBD) NA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM SEMENTES DE *E.velutina* WILLD.

RESUMO

E. velutina é uma espécie de grande importância para o bioma Caatinga, no entanto apresenta germinação lenta e desuniforme devido à dormência tegumentar. Neste trabalho, objetivou-se avaliar métodos de superação de dormência utilizando o plasma atmosférico. Para isso, instalou-se experimentos em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições de 25 sementes e os tratamentos para superação de dormência foram: controle (semente intacta), desponte na região oposta a micrópila e aplicação de plasma (gás atmosférico) por 3, 6 e 9 minutos. A aplicação de plasma foi por meio de placa, utilizando pulsos de voltagem de 9 kV, repetidos em frequência de 640 Hz, gerado a partir do gás atmosférico, em três tempos de radiação, sobre a superfície das sementes. A contagem do número de plântulas emergidas aconteceu de forma diária, durante 15 dias após a instalação. Como critério, considerou-se emergida as plântulas que apresentavam os cotilédones acima do substrato. Durante o teste de emergência, também foram executadas as seguintes avaliações: a) índice de velocidade de germinação; b) comprimento da parte aérea; c) massa seca da parte aérea; d) número de folhas e diâmetro do colo. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Assist. O plasma, produzido com gás atmosférico, não é eficiente em aumentar a taxa de germinação de sementes de *E. velutina* em nenhum tempo de exposição apresentado na pesquisa.

Palavras-chave: Fabaceae. Tratamento de sementes. Plasma a frio.

USE OF PLASMA OF DISCHARGE BY DIELECTRIC BARRIER (DBD) ON THE EXTRACTION OF DORMITY IN SEEDS OF *E.velutina* WILLD.

ABSTRACT

E. velutina is a species of great importance for the Caatinga biome, however it presents slow and uneven germination due to integumentary dormancy. In this work, the objective was to evaluate methods of overcoming dormancy using atmospheric plasma. For this, experiments were carried out in a completely randomized design with 4 replications of 25 seeds and treatments to overcome dormancy were: control (intact seed), shoot in the region opposite to micropyle and application of plasma (atmospheric gas) for 3, 6 and 9 minutes. The application of plasma was by means of a plate, using 9 kV voltage pulses, repeated at a frequency of 640 Hz, generated from the atmospheric gas, in three times of radiation, on the surface of the seeds. The number of emerged seedlings was counted every day for 15 days after installation. As a criterion, the seedlings presenting the cotyledons above the substrate were considered to be emerged. During the emergency test, the following evaluations were also performed: a) germination rate index; b) length of shoot; c) dry mass of the aerial part; d) number of leaves and diameter of the cervix. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test at 1% of probability, using the Assist statistical program. Plasma, produced with atmospheric gas, is not efficient in increasing the seed germination rate of *E. velutina* at any exposure time presented in the research.

Keywords: Fabaceae. Seed treatment. Plasma cold.

1 INTRODUÇÃO

E. velutina, espécie da família Fabaceae, conhecida popularmente como mulungu, é uma árvore arbórea da região semiárida do Nordeste brasileiro, resistente à seca, rústica e de rápido crescimento (LORENZI; MATOS, 2008). É uma espécie com alto potencial para o mercado madeireiro, cosmético e medicinal, agregando valor econômico e ambiental (LORENZI; MATOS, 2008; AZEVEDO et al., 2013).

Limitações no processo de formação de mudas de *E. velutina* ainda são constatadas, devido à ocorrência de dormência tegumentar em suas sementes (SANTOS et al., 2013). Este fato tem dificultado a germinação, que ocorre de forma lenta e desuniforme. A dormência tegumentar é comum em sementes de várias leguminosas e constitui um dos fatores de importância fundamental para a permanência destas espécies em campo, mesmo em condições de adversidade climática. Assim, algumas dessas sementes mantidas no solo podem, em determinadas situações, embeberem água e germinarem em intervalos sucessivos, quando as condições ambientais passarem a ser favoráveis (MARCOS-FILHO, 2015).

A impermeabilidade do tegumento pode ser superada por meio da escarificação, que segundo Marcos-Filho (2015) é qualquer tratamento que resulte na ruptura ou no enfraquecimento do tegumento, permitindo a passagem de água e dando início ao processo germinativo. Para superar essa inviabilidade das sementes, vários são os métodos utilizados, entre os quais se destacam a escarificação mecânica (SANTOS et al., 2013), química com ácido sulfúrico (SILVA et al., 2007) e a imersão em água quente (ALBUQUERQUE et al., 2007), sendo os dois primeiros também indicados pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Embora sejam eficientes em aumentar a taxa de germinação, esses métodos apresentam algumas desvantagens, tais como: inviabilizam a produção de mudas em grande escala, riscos no manuseio de ácidos e ainda pode afetar a qualidade das sementes com água quente (PEREIRA, 2011).

Recentemente a utilização do plasma frio à pressão atmosférica vem sendo utilizado como meio de superar a dormência em sementes, principalmente para as que possuem o tegumento resistente a absorção de água durante o processo de germinação. Neste sentido, tem-se empregado o plasma gerado em descarga por barreira dielétrica (DBD), em temperatura ambiente, cujo método é considerado ecologicamente seguro, barato e eficaz (JIANG et al., 2014). Essa alternativa mostrou-se eficiente para sementes

de *Triticum* sp. (DOBRIN et al., 2015), *Glycine* sp.(LING et al.,2014), *Phaseolus vulgaris* (BORMASHEENKO et al., 2015), *Sophora flavescens* e *Cassia torosa* (YAMAUCHI et al., 2012), *Leucaena leucocephala* (GUIMARÃES et al., 2015), *Spinacia oleracea* (JI et al., 2016) e *Brassica napus* (PULIGUNDLA et al., 2017).

Os bons efeitos da utilização do plasma na superação de dormência em sementes é, provavelmente, devido a ocorrência de reações químicas pela interação do gás com a superfície da semente. Isto faz com que a camada que antes era hidrofóbica se torne hidrofílica, reduzindo a impermeabilidade do tegumento e conseqüentemente melhorando a absorção de água pela semente (SERÁ et al., 2009), com isto, tem proporcionado o aceleração do metabolismo durante a germinação (FILATOVA et al., 2015).

Neste trabalho, verificou-se o efeito da utilização do plasma atmosférico como meio de superara dormência em sementes de *E. velutina*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Plasma Aplicado do Centro de Ciências Exatas e Naturais (CCEN) e Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrária (CCA), ambos pertencentes à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

As sementes de *E. velutina* foram adquiridas no assentamento Padre Alfredo, Crateús-CE (05°10'42"S, 40° 40' 39"W e 274 m de altitude) no ano de 2012. Após recebidas, efetuou-se o beneficiamento manual, excluindo as danificadas por insetos, chochas e partidas. Em seguida, foram homogeneizadas por meio do homogeneizador tipo Gamete armazenadas em câmara fria (10 °C e 50% de UR) até o início do experimento.

As sementes foram imersas em plasma durante 3, 6 e 9 minutos, para efeito de comparação, utilizou-se sementes sem tratamento (controle) e sementes com desponte na região oposta à micrópila. O plasma foi gerado por Descarga por Barreira Dielétrica (DBD), utilizando pulsos de voltagem de 9 kV, repetidos em frequência de 640 Hz, gerado a partir do gás atmosférico em três tempos de radiação, sobre a superfície das sementes.

A semeadura foi realizada em bandejas de polietileno (26 x 18 x 5,5 cm), utilizando como substrato areia lavada e esterilizada (160 °C por 2 horas) que foi inicialmente umedecida com água destilada na proporção de 60% da capacidade de retenção (BRASIL, 2009). As sementes foram semeadas a 2 cm de profundidade com o hilo voltado para baixo (CARDOSO et al., 2008). Para cada tratamento, utilizaram-se quatro repetições de 25 sementes. As irrigações foram realizadas diariamente, aplicando-se de maneira uniforme, um volume de água suficiente para manter capacidade de campo do substrato em aproximadamente 60%. A contagem do número de plântulas emergidas aconteceu de forma diária durante 15 dias após a instalação. Como critério, considerou-se emergida as plântulas que apresentavam os cotilédones acima do substrato (BRASIL, 2009).

Durante o teste de germinação, também foram executadas as seguintes avaliações: a) índice de velocidade de germinação (IVG) – calculado conforme fórmula proposta por Maguire (1962). Estes valores foram obtidos mediante contagem diária de plântulas normais até o décimo quinto dia após a semeadura; b) comprimento da parte aérea (CPA) - plântulas normais foram mensuradas a partir da região do colo ao

meristema apical, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros e os resultados expressos em cm/plântula; c) massa seca da parte aérea (MSPA) - a parte aérea das plântulas foram acondicionadas em saco de papel e colocadas em estufa de circulação de ar, regulada a 65 °C por 48 h. Decorrido este período, as plântulas foram pesadas em balança analítica (0,0001 g) e os resultados expressos em g/plântula; d) número de folhas (NF) - na contagem, considerando-se cada folha composta (três folíolos) como uma unidade; e) diâmetro do colo (DC) - medido com um paquímetro digital e os resultados expressos em mm/plântula.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições de 25 sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Assist, versão 7.6 beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, houve diferença significativa apenas entre as médias de porcentagem de germinação (PG) e índice de velocidade de germinação (IVG), (Tabela 1).

Tabela 1 -Resumo da análise de variância para as características porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), massa seca da parte aérea (MSPA), número de folhas (NF) e diâmetro do colo (DC), de plântulas de *Erythrina velutina* Willd. após tratamento com plasma atmosférico. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

FV	GL	Quadrados médios					
		PG	IVG	MSPA	NF	DC	CPA
Tratamentos	4	2530,0**	3,4**	0,00161 ^{ns}	1,5 ^{ns}	0,7 ^{ns}	39,4 ^{ns}
Resíduo	15	160,0	0,09	0,00130	0,7	0,9	37,8
CV (%)	-	38,33	27,69	27,15	34,55	24,34	32,7

** Significativo a 1% de probabilidade, ^{ns} não significativo

O tratamento com desponte ao lado oposto à micrópila, proporcionou maior porcentagem de germinação, assim como maior índice de velocidade de germinação das sementes *E. velutina* (Figura 1A e B). Pesquisas apontam ser esse método o mais eficiente para superar a dormência tegumentar de *E. velutina* independente da escarificação ser oposta ou junto a micrópila (SILVA et al., 2007; SILVA, 2008; SANTOS et al., 2013).

Tratamento pré-germinativo, utilizando desponte em sementes, tem sido bastante utilizado em espécies florestais. Este método permitiu bom desempenho germinativo e desenvolvimento de plântulas normais, mostrando-se mais adequado para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de *Tachigali vulgaris* (ABREU et al., 2017). O desponte das sementes de *Bauhinia divaricata* foi o tratamento mais eficiente para superação da dormência, proporcionando os melhores resultados de emergência e de vigor (ALVES et al., 2004). A escarificação mecânica foi eficiente em superar a dormência em sementes de *Caesalpinia pyramidalis* (ALVES et al., 2007). A

dormência tegumentar em sementes de *Parkia discolor*, também foi superada de forma satisfatória por meio da escarificação manual (PEREIRA; FERREIRA, 2010).

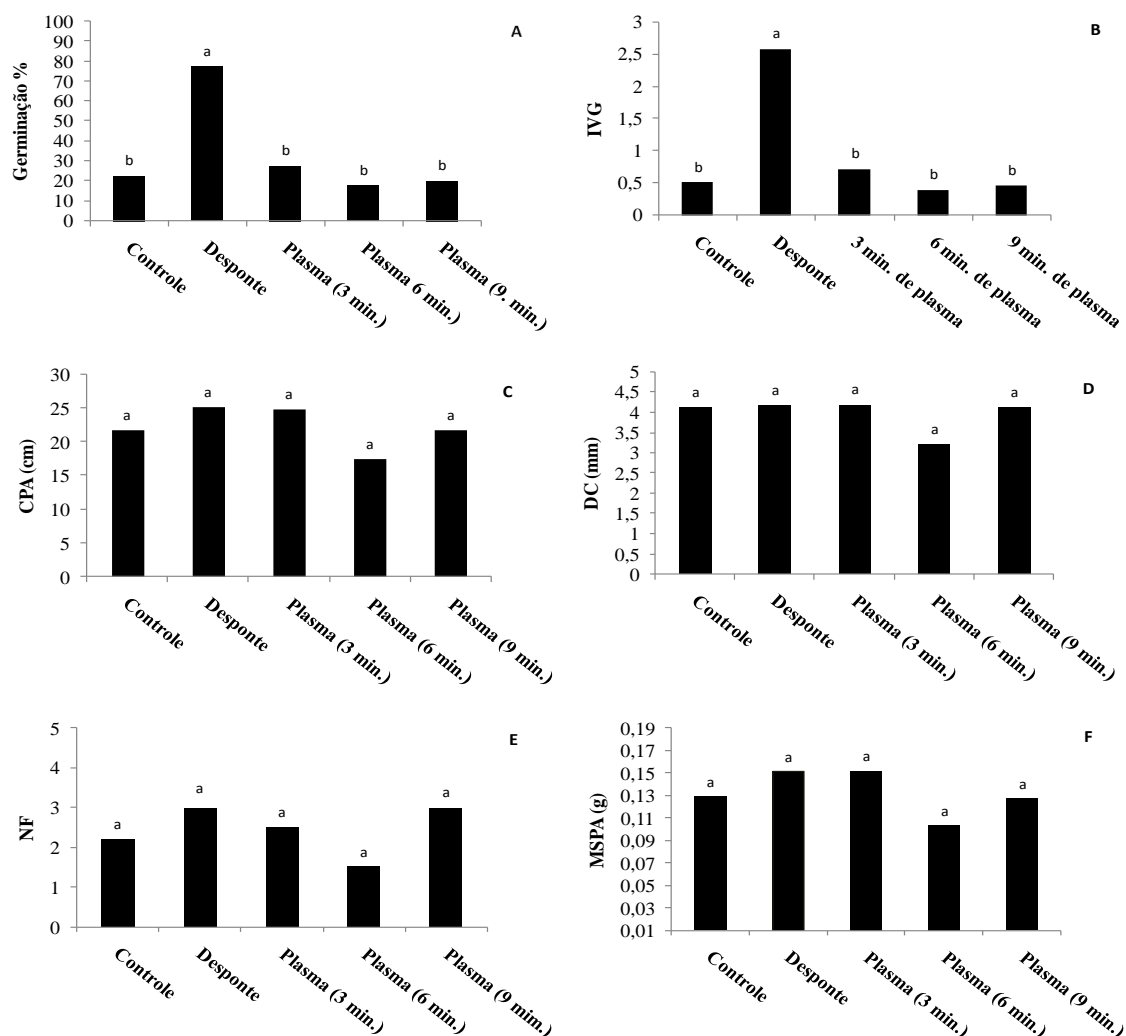


Figura 1– Porcentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), comprimento da parte aérea (C), diâmetro do colo (D), número de folhas (E), massa seca da parte aérea (F) de plântulas *Erythrina velutina* Willd. após as sementes serem submetidas ao tratamento com plasma atmosférico, durante três, seis e nove minutos. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

A resposta das sementes de *E. velutina* aos tratamentos com plasma com gás atmosférico foi bastante divergente dos encontrados na literatura. Nesta pesquisa, nenhum dos tempos de radiação foi eficiente para proporcionar aumento na germinação

das sementes de *E. velutina*, quando comparado com as sementes escarificadas e sem tratamento.

Em outro tipo de ionização, testado por Alves Jr. et al. (2016), também com *E. velutina*, verificou-se que as sementes submetidas a jato de plasma (tensão de 10 kV, frequência de 750 Hz e potência de 150 W), produzido por descarga de gás hélio em um fluxo de 0,03 L/s, proporcionou pequeno aumento na germinação, quando comparado com as sem tratamento.

Pesquisas com outras espécies, empregando-se o plasma, apresetaram acréscimo na taxa de germinação de sementes. Silva et al. (2017) verificaram aumento na porcentagem de germinação em sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia*, utilizando o plasma atmosférico durante três minutos. Yamauchi et al. (2012), trabalhando com as espécies medicinais *Sophora flavescens* e *Cassia torosa*, constataram que o tratamento com plasma proporcionou aumento significativo na porcentagem de germinação das sementes. Mitra et al. (2014) obteve aumento na taxa germinativa de sementes de *Cicer arietinum* após três minutos com plasma atmosférico. Ji et al. (2016) observou acréscimo no percentual de germinação em sementes de *Spinacia oleracea* tratadas com plasma. Puligundla et al. (2017) verificaram efeito favorável na germinação em sementes de *Brassica napus* e um aumento no crescimento inicial das plântulas, após tratamento de três minutos com plasma. Sadhu et al. (2017) observaram melhoria na germinação das sementes de *Vigna radiate*, utilizando plasma frio, como tratamento pré-germinativo.

As variações de comportamento constatadas entre a presente pesquisa e outros relatos literários podem ser decorrentes de que a eficiência do plasma como tratamento pré-germinativo dependerá da escolha do tipo de gás, do tempo de aplicação, da composição dos gases usados em sua formação, bem como do material genético envolvido (DUBIDOV et al., 2000; YIN et al., 2005; DHAYAL et al., 2006; LIANG et al., 2008; SERÁ et al., 2009).

A exposição das sementes ao plasma em até 9 minutos, mesmo não tendo apresentado melhorias na taxa germinativa, não provocou alterações significativas no comprimento da parte aérea (Figura 1C), diâmetro do colo (Figura 1D), número de folhas (Figura 1E) e massa seca da parte aérea (Figura 1F) das plântulas de *E. velutina*, quando comparado ao controle e ao desponete. Tais resultados poderão contribuir como mais um achado aos estudos vindouros, uma vez que, fontes de plasma em temperatura ambiente, estão sendo desenvolvidas para serem utilizadas na agricultura, com o

objetivo de aumentar a germinação em sementes sem ocasionar danos ao crescimento de plântulas (MITRA et al., 2014).

Registros referentes a presente pesquisa são citados na literatura. Kordas et al. (2015), trabalhando com sementes de *Triticum* sp., observaram que o tratamento com plasma não afetou o crescimento e massa seca das plântulas; Young et al. (2014) mantiveram o vigor das sementes de *Oryza* sp. após serem expostas ao plasma atmosférico; Jiang et al. (2014) obtiveram aumento na germinação de sementes, crescimento das raízes e parte aérea, aumento do peso fresco e maior diâmetro do colo das plântulas de *Triticum* sp., após serem expostas ao plasma, e Matra (2016) utilizando o plasma em temperatura ambiente em sementes de *Raphanus sativus*, constatou melhor desenvolvimento no crescimento da parte aérea e raízes das plantas.

4 CONCLUSÃO

A utilização de plasma com gás atmosférico não é eficiente na superação de dormência em sementes de *E. velutina*.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; PORTO, K. G.; NOGUEIRA, A. C. Métodos de superação da dormência e substratos para germinação de sementes de *Tachigali vulgaris* L. **Floresta e Ambiente**, v. 24, p. 1-10, 2017.
- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; ALMEIDA, I. F.; CLEMENTE, A. C. S. Métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, 2007.
- ALVES, A. U.; DORNELAS, M. C. S.; BRUNO, R. L. A.; ANDRADE, L. A.; ALVES E.; U. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia divaricata* L. **Acta Botânica Brasileira**, v. 18, n. 4, p. 871-879. 2004.
- ALVES E. U.; CARDOSO, E. A.; BRUNO, R. L.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; GALINDO, E. A.; JUNIOR, J. M. B. Superação da dormência em sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p. 405-415, 2007.
- ALVES JUNIOR, C.; VITORIANO, J. C.; SILVA, D. L. S.; FARIAS, M. L.; DANTAS, N. B. L. Water uptake mechanism and germination of *Erythrina velutina* seeds treated with atmospheric plasma. **Scientific Reports**, v. 6, n. 33722, p. 1-7, 2016
- AZEVEDO, R. M.; SANTOS, H. O.; FERREIRA, R. A.; MARÇAL, R. M.; SILVA-MANN, R. Variabilidade genética em populações de *Erythrina velutina* Willd. por meio de isoenzimas. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 11, Supl. 1, p. S43-S51, 2013.
- BORMASHENKO, E; SHAPIRA, Y; GRYNIOV, R; WHYMAN, G; BORMASHENKO, Y; DRORI, E. Interaction of cold radiofrequency plasma with seeds of beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 13, p. 4013-21, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395p.

CARDOSO, E. A.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; SILVA, K. B. Emergência de plântulas de *Erythrina velutina* em diferentes posições e profundidades de semeadura. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2618-2621, 2008.

DHAYAL, M.; LEE, S. Y.; PARK, S. U. Using low-pressure plasma for *Carthamus tinctorium* L. seed surface modification. **Vacuum**, v. 80, n. 5, p. 499-506, 2006.

DOBRIN, N.; MAGUREANU, M.; MANDACHE, N. BOGDAN.; IONITA, M. D. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 29, p. 255-260, 2015.

DUBINOV, A. E.; LAZARENKO, E. R.; SELEMIR, V. D. Effect of glow discharge air plasma on grain crops seed. **IEEE Transactions on Plasma Science**, v. 28, n. 1, p. 180-183, 2000.

FILATOVA, I. I.; DOBRIN, D.; MAGUREANU, M.; MANDACHE, N. B.; IONITA, M. D. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. **Innovative Food Science e Emerging Technologies**, v. 29, n. 1 p. 255-260, 2015.

GUIMARÃES, I. P.; ALVES JR, C.; TORRES, S. B.; VITORIANO, J. O.; DANTAS, N. B. L. DIÓGENES, F. E. P. Double barrier dielectric plasma treatment of leucaena seeds to improve wettability and overcome dormancy. **Seed Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 1-5, 2015.

JI, S.; CHOI, K.; PENGKIT, A.; IM, J. S.; KIM, J. S.; KIM, Y. H.; PARK, Y.; HONG, E. J.; JUNG, S. K.; CHOI, E.; PARK, G. Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 605, p. 117-128, 2016.

JIANG, J.; HE, X.; LI, L.; LI, J.; SHAO, H.; XU, Q.; YE, R.; DONG, Y. Effect of cold plasma treatment on seed germination and growth of wheat. **Plasma Science and Technology**, v. 16, n.1, p. 54-58, 2014.

KORDAS, L.; PUSZ, W.; CZAPKA, T.; KACPRZYK, R. The effect of low-temperature plasma on fungus colonization of winter wheat grain and seed quality. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 24, n. 1, p. 433-438, 2015.

LIANG, Q.; HUANG, Q.; CAO, G.; YING, F.; LIU, Y.; HUANG, W. Study of biological effects of low energy ion implantation on tomato and radish breeding. **Plasma Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 254, 2008.

LING, L.; JIAFENG, J.; JIANGANG, L.; MINCHONG, S.; XIN, H. E.; HANLIANG, S.; YUANHUA, D. Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1 p. 58-59, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

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

MATRA, K. Non- thermal plasma for germination enhancement of radish seeds. **Procedia Computer Science**, v. 86, p. 132-135, 2016.

MITRA, A.; LI, Y. F., KLAMPFL, T. G.; SHIMIZU, T.; JEON, J.; MORFILL, G. E.; ZIMMERMANN, J. L. Inactivation of surface-borne microorganisms and increased germination of seed specimen by cold atmospheric plasma. **Food Bioprocess Technology**, v. 7, n. 3,p. 645-653, 2014.

PEREIRA, M. S. **Manual técnico: conhecendo e produzindo mudas da Caatinga**. Fortaleza: Associação Caatinga, 2011. 60p.

PEREIRA S. A.; FERREIRA, S. A. N. Superação da dormência em sementes de visgueiro (*Parkia discolor*). **Acta Amazonica**, v. 40, n 1, p. 151-156, 2010.

PULIGUNDLA, P.; KIM, J.; MOK, C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds. **Food Control**, v. 71, p. 376-382, 2017.

SANTOS, L. W.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; SILVA, R. C. P.; CÂNDIDO, W. S.; SILVA, A. C. Armazenamento e métodos para a superação da dormência de sementes de mulungu. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 171-178, 2013.

SADHU, S.; THIRUMDAS, R.; DESHMUKH, R. R.; ANNAPURE, U. S. Influence of cold plasma on the enzymatic activity in germinating mung beans (*Vigna radiate*). **Food Science and Technology**, v.78, n. 97, p 104, 2017.

SERÁ, B.; STRANAK, V.; SERY, M.; TICHY, M.; SPATENKA, P. Germination of *Chenopodium Album* in Response to Microwave Plasma Treatment. **Plasma Science and Technology**, v. 10, n. 4, p. 506-511, 2009.

SILVA, A. R. M.; FARIAS, L. M.; SILVA, D. L. S.; VITORIANO, J. O.; SOUSA, R. C.; ALVES-JUNIOR, C. Using atmospheric plasma to increase wettability, Imbibitions and Germination of physically Dormant seeds of *Mimosa Caesalpiniaefolia*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 157, p. 280-285, 2017.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, K. B. **Tecnologia de sementes de *Erithrina velutina* Willd.** 2008. 128 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

SILVA, K. B.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; GONÇALVES, E. P.; BRAZ, M. S. S.; VIANA, J. S. Quebra de dormência em sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 180-182, 2007.

YAMAUCHI ,Y; KUZUYA, M.; SASAI ,Y.; KONDO, SHIN-ICHI. Surface treatment of natural polymer by plasma technique - Promotion of seed germination. **Journal of Photopolymer Science and Technology**, v. 25, n. 4, p. 235-238, 2012.

YIN, M.Q.; HUANG, M.G.; MA, B.Z.; MA, T.C. Stimulating effects of seed treatment by magnetized plasma on tomato growth and yield. **Plasma Science and Technology**, v. 7, n. 6, p.3143-3147, 2005.

YOUNG, K., J.; CHO, J.; C.; TSAI, T.; STAACK, D.; KANG, M.; ROH, J.; R.; SHIN, D.; CROMWELL, W.; GROSS, D. Anon-thermal plasma seed treatment method for management of a seed borne fungal pathogen on rice seed.