



BÁRBARA GOMES RIBEIRO

**DANOS MECÂNICOS E TRATAMENTO
QUÍMICO NA QUALIDADE DE SEMENTES DE
MILHO ARMAZENADAS**

LAVRAS – MG

2016

BÁRBARA GOMES RIBEIRO

**DANOS MECÂNICOS E TRATAMENTO QUÍMICO NA QUALIDADE
DE SEMENTES DE MILHO ARMAZENADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de mestre.

Orientador

Dr. Renato Mendes Guimarães

LAVRAS - MG

2016

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ribeiro, Bárbara Gomes.

Danos mecânicos e tratamento químico na qualidade de sementes de milho armazenadas / Bárbara Gomes Ribeiro. – Lavras: UFLA, 2016.
63 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico) – Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Renato Mendes Guimarães.

Bibliografia.

1. *Zea mays* L. 2. Raios X. 3. Qualidade fisiológica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

BÁRBARA GOMES RIBEIRO

**DANOS MECÂNICOS E TRATAMENTO QUÍMICO NA QUALIDADE
DE SEMENTES DE MILHO ARMAZENADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de mestre.

APROVADA em 19 de fevereiro de 2016.

Dra. Renata Silva Mann UFS

Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho UFLA

Dr. Renato Mendes Guimarães
Orientador

**LAVRAS - MG
2016**

À minha mãe Beatriz, ao Nivaldo, ao meu irmão Felipe, por todo apoio e carinho, e ao meu Pai Ricardo, em memória, que se faz presente mesmo em outro plano, às minhas amigas sem as quais eu não conseguiria concluir mais essa etapa da minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as oportunidades, vitórias e conquistas, e também por todas as dificuldades encontradas no caminho, que me fizeram crescer em todos os sentidos.

À minha mãe, amiga, companheira, parceira e maior incentivadora, ao Nivaldo, meu pai de coração, ao meu irmão Felipe por todos os ensinamentos, conselhos, pelo ombro amigo e sincero, pelos ensinamentos e suporte durante os últimos anos, que me ajudaram todos os dias a buscar e seguir o caminho para a vitória.

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, pela receptibilidade e também às agências de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio técnico e financeiro.

Ao Setor de Sementes, e todos que nele trabalham ou trabalharam. Em especial, agradeço ao Professor Renato, meu orientador, por toda paciência, carinho, ensinamentos, reconhecimento, apoio e por ter sido mais que um orientador nos momentos difíceis. À professora Laene pela confiança, carinho, oportunidades, e por me proporcionar momentos incríveis e de grande aprendizado. Ao professor João Almir, também, por toda atenção, carinho, confiança e parceria. À professora Heloisa (Helo), por todos os ensinamentos, por todo o apoio técnico e emocional, por toda a dedicação, paciência, e parceria. Aos demais professores e pesquisadores do setor por todo cuidado e carinho.

À Marli, na pós-graduação, por todo carinho, apoio, paciência, dedicação e por estar sempre disposta a me ajudar.

Aos amigos e parceiros do laboratório, Elenir, Dona Elsa, Viviana, Cláudio, Antônio, Geraldo, Dalva, Jaqueline e Fran, muito obrigada, por todo

carinho, apoio, paciência e por toda contribuição para com o sucesso dos nossos trabalhos.

Ao Núcleo de Estudos em Sementes – NESem, por todos os ensinamentos adquiridos, por todas as oportunidades de crescimento pessoal e profissional. Aos membros e ex-membros que estiveram ao meu lado, agradeço por toda paciência e confiança depositada em mim.

Aos meus amigos agradeço de coração, por todos os momentos vividos com vocês, pelo carinho, confiança, amizade, paciência, amor, companheirismo, por todas as comemorações e confraternizações que nos uniram cada vez mais nessa amizade linda. Em especial gostaria de agradecer à Raquel, Heloisa, Tatiana e Cíntia, amigas queridas, que além de estarem ao meu lado no dia a dia, me deram todo apoio necessário para concretização dessa etapa, sem o apoio, carinho e incentivo de vocês, não seria possível realizar esse sonho. Às minhas amigas lindas do *Chuveirinho*, companheiras de festas, de risadas e de momentos inesquecíveis, obrigada por tudo lindas, pelos momentos felizes e também por todos os ensinamentos, cada uma da sua maneira, contribuiu e contribui a cada dia para o meu crescimento, amo vocês! Agradeço também aos amigos queridos, Dennis (Deuso), Lip, Schwan e Mamute por todo carinho e paciência.

Enfim, agradeço a todos que estiveram comigo nessa jornada e que fizeram dos meus dias mais felizes.

RESUMO

O sistema de produção de sementes é altamente mecanizado e essas operações podem contribuir para perdas na qualidade do produto pela incidência de danos mecânicos, o que torna as sementes mais susceptíveis ao ataque de pragas e à infestação por fungos patogênicos. A utilização de sementes sadias é requisito para obtenção de bons rendimentos e o tratamento químico pode ser uma alternativa para minimizar o efeito de danos mecânicos e suas consequências. Objetivou-se estudar o efeito do tratamento químico e do armazenamento sobre a qualidade de sementes de milho com danos mecânicos. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório Central de Análise de Sementes, em Lavras – MG. Utilizou-se um híbrido da safra 2013/2014 fornecido pelo SeedCare Institute. As sementes foram individualmente analisadas por meio do teste de raios-X para obtenção de três lotes: um composto por sementes sem separação, outro com sementes sem danos mecânicos e um de sementes com danos mecânicos. Os lotes foram avaliados quanto à qualidade fisiológica, sanidade e análises enzimáticas. Realizou-se o tratamento químico com o inseticida Maxim Advanced® e o fungicida Cruiser®, e sementes tratadas e não tratadas foram novamente avaliadas, antes do armazenamento e aos 90 dias de armazenamento. Pode-se concluir que o tratamento químico de sementes de milho com o fungicida é eficiente no controle de patógenos, como *Fusarium*. O desempenho de sementes com danos externos e internos pode ser mantido por 90 dias quando tratadas com o fungicida e o inseticida e armazenadas em condição ambiente. Os padrões isoenzimáticos das enzimas CAT, SOD, MDH e ADH, confirmaram a maior deterioração de sementes não tratadas durante o armazenamento em comparação com as que foram tratadas. Os danos mecânicos encontrados nas sementes contribuem para a redução da viabilidade e do vigor das sementes de milho.

Palavras-chave: *Zea mays* L.. Raios-X. Qualidade fisiológica.

ABSTRACT

The current system of seed production is highly mechanized and these operations can contribute to product quality loss due to the incidence of mechanical damages, making the seeds more susceptible to attack by pests and to the infestation by pathogenic fungi. Using healthy seeds is a requirement for the obtainment of good yields and the chemical treatment can be an alternative to minimize the effect of mechanical damages and their consequences. The objective of this work was to study the effect of the chemical treatment and the storage on quality of maize seeds with mechanical damages. The work was developed at the Central Laboratory of Seeds Analyses, in Lavras – MG. It was used only one hybrid, from crop 2013/2014 provided by the Seed Care Institute. Initially, seeds were analyzed through X-ray test for the obtainment of three lots; seeds with damages, seeds without damages, and seeds without separation. Following, the lots were evaluated according the physiological quality, sanity and enzymatic analyzes. It was performed a chemical treatment with the insecticide Maxim Advanced[®] and the fungicide Cruiser[®], and the treated and non-treated seeds were re-evaluated, before the storage and at 90 days of storage. It can be conclude that the chemical treatment of maize seeds with the fungicide is efficient in the control of pathogens, like *Fusarium* sp.. The performance of seeds with internal and external damages can be maintained for 90 days when treated with fungicides and insecticides and stored in environment condition. The isoenzymatic patterns of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), malate dehydrogenase (MDH) and alcohol dehydrogenase (ADH), confirmed the higher deterioration of non-treated seeds during the storage in comparison to those seeds that were treated. The mechanical damages found in seeds contribute to the reduction of viability and vigor of maize seeds.

Keywords: *Zea mays* L.. X-rays. Physiological quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sementes de milho submetidas ao corante <i>Fast Green</i> e posteriormente ao teste de Raios-X para avaliação de danos mecânicos.....	31
Figura 2	Padrões eletroforéticos das enzimas SOD, CAT, MDH e ADH de três lotes de sementes de milho.....	37
Figura 3	Padrões eletroforéticos da enzima superóxido dismutase (SOD) em sementes milho antes (0 dias) e aos 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratadas, T – Tratadas quimicamente).	49
Figura 4	Padrões eletroforéticos da enzima catalase (CAT) em sementes de milho antes (0 dias) e aos 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratada, T – Tratada quimicamente)	50
Figura 5	Padrões eletroforéticos da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de milho antes (0 dias) e 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratada, T – Tratada quimicamente).....	52
Figura 6	Padrões eletroforéticos da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de milho antes (0 dias) e aos 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratada, T – Tratada quimicamente)....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Porcentagem de sementes com dano encontradas por cada metodologia (F=Fast Green; L=Lupa; SAS=Sistema de Análise de Sementes; RX=Raios-X).....	30
Tabela 2	Resultados fisiológicos de três lotes de sementes de milho.....	32
Tabela 3	Porcentagem média de sementes viáveis com danos (VCD), viáveis sem dano (VSD) e inviáveis (IN) obtidas pelo teste de tetrazólio (TZ).....	35
Tabela 4	Número de sementes infestadas por fungos em três lotes de sementes de milho identificados por meio do Blotter Test.....	35
Tabela 5	Porcentagem média de germinação e primeira contagem após o tratamento químico e armazenamento de sementes de milho por 90 dias.....	38
Tabela 6	Índice de velocidade de emergência (IVE) de três lotes de sementes aos 0 e 90 dias após o tratamento de sementes	40
Tabela 7	Porcentagem média de plântulas normais obtidas no teste de frio por meio da testemunha e de sementes tratadas com 0 e 90 dias após o tratamento de sementes.....	41
Tabela 8	Médias de germinação (%) de sementes de milho tratadas e não tratadas submetidas ao teste de envelhecimento acelerado.....	42
Tabela 9	Médias de germinação (%) para o teste de EA de sementes de milho submetidas ao tratamento químico e armazenamento	43
Tabela 10	Condutividade elétrica média para cada lote durante o armazenamento ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$)	44
Tabela 11	Número de sementes de milho, viáveis sem danos mecânicos, avaliadas por meio do teste de tetrazólio	45
Tabela 12	Número de sementes de milho com incidência de fungos avaliadas aos 0 e 90 dias após o tratamento de sementes	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Importância Econômica da cultura do milho	14
2.2	Qualidade de sementes de milho	14
2.3	Isoenzimas	16
2.4	Danos mecânicos	17
2.4.1	Métodos de identificação de danos mecânicos em sementes de milho	18
2.5	Microrganismos e armazenamento	21
2.6	Tratamento químico de sementes de milho	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1	Caracterização do Perfil dos Lotes	30
4.2	Qualidade fisiológica das sementes tratadas aos 0 e 90 dias	37
5	CONCLUSÕES	55
	REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

Devido à importância econômica da cultura do milho, é fundamental a utilização de sementes de alta qualidade que irão garantir um estande uniforme e alta produtividade. Dentre os vários fatores que afetam a qualidade das sementes, estão os fatores físicos, que dizem respeito ao teor de água, à presença de materiais inertes, outras sementes e sementes danificadas.

No processo de produção de sementes de milho, as danificações mecânicas têm se revelado como um dos principais problemas que coloca em risco a qualidade fisiológica e a sanidade das sementes. O dano mecânico se refere à injúria causada por agentes físicos no manuseio das sementes, na forma de quebras, trincas, cortes e abrasões, podendo ter como consequência a redução da sua qualidade fisiológica após a injúria (efeito imediato) e/ou após determinado período de armazenamento (efeito latente).

A detecção desses danos pode dar subsídios para que ocorra um maior ajuste da cadeia de produção, minimizando os problemas advindos da presença desses danos ou mesmo diminuir o efeito desses danos ao longo do armazenamento.

Durante o armazenamento, as sementes ficam susceptíveis ao ataque de pragas e patógenos, principalmente aquelas danificadas, e por isso torna-se indispensável o tratamento químico. O tratamento de sementes desempenha um papel fundamental para o sucesso da emergência de plântulas de maneira uniforme em condições ideais ou adversas.

As sementes de milho são tratadas em sua grande maioria com fungicidas e inseticidas. Alguns estudos já foram realizados para verificar o efeito do tratamento químico durante o armazenamento de sementes, e em muitos casos foi possível observar que o tratamento interfere muito pouco na qualidade fisiológica das mesmas, com reconhecida eficiência na redução da

incidência de fungos patogênicos e também do ataque de pragas. Porém, necessita-se aprofundar o estudo sobre o efeito dos produtos químicos durante o armazenamento, em sementes danificadas, a fim de determinar possíveis perdas.

Esses estudos são necessários para as empresas produtoras de sementes, auxiliando-as nas tomadas de decisões quanto à destinação de lotes de sementes, principalmente para aqueles híbridos mais susceptíveis a danos mecânicos.

Diante disso, objetivou-se com este trabalho separar as sementes de milho quanto à presença de danos mecânicos, assim como testar a eficiência de diferentes métodos de detecção de danos e, também, verificar a influência do tratamento químico em sementes com danos mecânicos durante o armazenamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância Econômica da cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas que compõe a balança comercial brasileira e por isso tem grande importância econômica, sendo produzido em diversas regiões do país (FERREIRA et al., 2013). De acordo com o United States Department of Agriculture (USDA), o Brasil ocupa hoje o terceiro lugar na produção mundial de milho, ficando atrás dos Estados Unidos e da China (DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO - DEAGRO, 2015a).

Aproximadamente 82 milhões de toneladas do cereal foram produzidas na safra 2014/2015, e, no que diz respeito às exportações, o Brasil ocupa o segundo lugar no ranking mundial, perdendo apenas para os Estados Unidos, exportando 23,5 milhões de toneladas do produto (DEAGRO, 2015a).

Diante da importância econômica da cultura, para que se obtenham produções cada vez maiores e para que os rendimentos sempre superem as expectativas, é imprescindível a utilização de sementes de milho de boa qualidade (MARTIN et al., 2007).

2.2 Qualidade de sementes de milho

A semente é considerada o principal insumo agrícola, por conduzir até o campo características genéticas que determinam o desempenho do cultivar e por contribuir para o sucesso do estabelecimento do estande (MARCOS FILHO, 2015). A interação dos fatores genético, fisiológico, físico e sanitário, determina a qualidade da semente (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; HENNING, 2009).

A qualidade genética diz respeito à pureza genética, propriamente dita, relativa à contaminação por troca de grãos de pólen e à contaminação varietal, relativa à mistura de sementes de diferentes cultivares.

A qualidade fisiológica refere-se à viabilidade, longevidade e ao vigor. A viabilidade é determinada principalmente pelo teste de germinação, o qual explora a máxima germinação em condições favoráveis do ambiente; a longevidade corresponde ao período máximo de tempo em que as sementes permanecem vivas quando armazenadas em condições ideais e o vigor determina o potencial fisiológico, ou seja, a capacidade da semente germinar e a plântula desenvolver-se quando exposta a condições desfavoráveis. Os testes de vigor têm como objetivo detectar diferenças na qualidade fisiológica de lotes com germinação semelhante, assim como, de maneira geral, distinguir lotes de baixo e alto vigor (MARCOS FILHO, 2015). Desta forma os testes de vigor são sempre comparativos.

O atributo físico diz respeito à integridade da semente, ao teor de água e às misturas físicas contidas nos lotes referem-se à presença de sementes quebradas, material inerte e outras sementes. A condição física da semente pode ser avaliada por meio do grau de umidade, tamanho da semente, cor, densidade, aparência, danos mecânicos e danos causados por insetos e por patógenos. Outro atributo de qualidade de sementes é o aspecto sanitário, o qual se refere a patógenos que possam interferir negativamente na germinação ou no desenvolvimento das plântulas.

Além de vários testes convencionais utilizados para a avaliação da qualidade genética, física, fisiológica e sanitária de sementes, pode-se também avaliar a qualidade fisiológica das sementes por meio da avaliação da atividade bioquímica nos perfis de proteínas e enzimas específicas. A técnica de eletroforese de proteínas pode possibilitar a detecção dos estádios iniciais da deterioração, através da atividade de enzimas associadas com a degradação e

oxidação de substâncias de reserva, bem como biossíntese de novas substâncias (COUTINHO et al, 2007; SPINOLA; CÍCERO; MELO, 2000).

A perda da viabilidade das sementes no processo de deterioração é precedida por redução na capacidade de sintetizar proteínas. Nesse sentido, as enzimas mais pesquisadas são aquelas envolvidas no processo de respiração, as que possuem funções específicas no metabolismo dos lipídeos, também enzimas removedoras de peróxidos e enzimas ligadas à desestruturação do sistema de membranas. As proteínas de armazenamento têm sido utilizadas para detecção de estágios mais avançados de deterioração (CARVALHO; VIEIRA; VON PINHO, 2000).

2.3 Isoenzimas

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são extremamente tóxicas e podem conduzir à destruição oxidativa da célula. A produção dos EROs é mais expressiva quando as sementes são expostas a diferentes tipos de estresse. O principal efeito tóxico dos EROs, consiste na capacidade de desencadear reações que resultam na produção de radicais destrutivos, tais como peroxidação de lipídeos (GARG; MANCHADA, 2009).

A enzima superóxido dismutase (SOD) é considerada a primeira no processo de defesa antioxidante. Ela atua anulando a ação dos superóxidos (O_2^-), catalisando sua conversão a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é um composto menos reativo (CARNEIRO et al., 2011). O aumento na atividade da SOD é conhecido por conferir tolerância ao estresse oxidativo (JALEEL et al., 2007).

A catalase (CAT) é também uma enzima antioxidante que catalisa a conversão de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O), e sua menor atividade pode estar associada à diminuição de mecanismos de prevenção de danos oxidativos (DUTRA, 2014). A CAT é considerada uma enzima

indispensável para a eliminação de EROs, principalmente em condições de estresse severo, pois sua atividade é efetiva principalmente quando há altos níveis de H_2O_2 .

A enzima Álcool Desidrogenase (ADH) reduz o acetaldeído para etanol no metabolismo aneróbico. Quando há redução da sua atividade, a semente fica susceptível aos danos causados pelo acetaldeído que é mais tóxico para as células do que o etanol (VEIGA et al., 2010). O aumento da atividade da ADH pode estar relacionado ao aumento da respiração anaeróbica e, assim, com o aumento da deterioração das sementes (GALVÃO et al., 2014).

A malato desidrogenase (MDH) atua no ciclo de Krebs catalisando a reação de malato ao oxalacetato, produzindo NADH, que é um produto fundamental na produção de ATP e de compostos intermediários essenciais ao funcionamento das células (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo Vidigal et al. (2009) essa enzima poderia se constituir como eficiente marcador da respiração aeróbica das sementes durante a maturação, pois os órgãos de reserva em desenvolvimento necessitam de maior suprimento energético e com isso, a atividade respiratória nesses tecidos vegetais é mais intensa.

2.4 Danos mecânicos

A produção de sementes de milho é uma operação que demanda alguns cuidados durante todo o processo, cuidados esses, que fazem parte dos programas de controle de qualidade das empresas produtoras, desde a semeadura à comercialização (FERREIRA et al., 2013).

O atual sistema de produção de sementes de milho é altamente mecanizado, tais operações dinamizam o sistema, mas também podem impor perdas na qualidade do produto, causadas pelos danos mecânicos, físicos e térmicos (TEIXEIRA et al., 2002). As injúrias não podem ser totalmente

evitadas, principalmente, devido ao uso de máquinas durante a debulha e o beneficiamento (MARCHI et al., 2006).

Durante a debulha, processamento e semeadura, as sementes são submetidas a impactos, abrasões, trincas e quebras, que além de provocarem danos imediatos, podem causar danos latentes que reduzem as qualidades físicas e fisiológicas do lote. Essas trincas são porta de entrada para microrganismos, que destroem as reservas da semente antes mesmo do plantio ou do estabelecimento no campo, além de aumentarem a sensibilidade da semente ao tratamento químico, reduzindo também a germinação, o vigor e o potencial de armazenamento (PAIVA; MEDEIROS FILHO; FRAGA, 2000; TEIXEIRA et al., 2002).

Com o intuito de preservar a qualidade das sementes de milho e contribuir com o aumento da rentabilidade da cultura, há a necessidade de reduzir a ocorrência de danos mecânicos (MARCHI et al., 2006). Por isso, alguns métodos têm sido pesquisados para identificar de maneira rápida a presença de danos mecânicos, na tentativa de obter sementes de melhor qualidade.

2.4.1 Métodos de identificação de danos mecânicos em sementes de milho

Os corantes são substâncias que podem ser utilizadas para facilitar a visualização a olho nu de danos em sementes, permitindo a separação mais eficiente de sementes danificadas. O uso tem sido relatado por diversos autores para a identificação de danos mecânicos em sementes de milho.

Com o objetivo de avaliar a eficiência dos corantes *amaranth*, iodo e fast green na identificação de danos mecânicos em sementes de milho, Oliveira et al. (1997) concluíram que todos os corantes são eficientes na detecção de danos mecânicos e que os corantes *amaranth* na concentração de 0,1% e iodo

4%, propiciaram as melhores condições para interpretação dos resultados. Em outro trabalho, Brandão Júnior et al. (1999), utilizando também corantes em sementes de milho, concluíram que o corante *amaranth* proporcionou menor variação na avaliação de danos mecânicos. A eficiência do *amaranth* foi verificada ainda por Carvalho et al. (1999), trabalho no qual os autores concluíram que o corante foi eficiente na identificação de danos externos causados por impactos, porém não eficiente para colorir as linhas oblíquas que são características de danos internos.

O lugol é outro corante que pode ser utilizado na identificação de sementes danificadas; esse reage com o amido e as regiões são coradas de azul. Este mesmo corante foi utilizado por Ferreira (2010) em sementes de milho, para identificação de danos mecânicos.

Os testes relatados anteriormente, além de destrutivos, não permitem identificar com precisão os danos diretamente relacionados com as anormalidades nas plântulas ou com a morte dos embriões.

Uma forma de contornar este problema é a utilização da análise de imagens, que também tem sido empregada como ferramenta para a detecção de danos mecânicos em sementes. Essa técnica tem se revelado promissora, e a rapidez na obtenção de imagens digitais e no processamento de dados e a crescente diminuição dos custos tem tornado sistemas de análise de imagem mais atraentes (CARVALHO, 2010).

Esta técnica consiste no reconhecimento da cena para a geração de características dimensionais, como áreas ou comprimentos de objetos, ou atributos, como padrões de cores e texturas, e a sua mensuração através de métodos de contagem ou frequência dos elementos formadores da imagem denominados *pixels* (TEIXEIRA; CÍCERO; DOURADO NETO, 2006).

Dentre as técnicas utilizadas de análise de imagens destinadas à identificação de danos mecânicos em sementes de milho, destaca-se o teste de

raios-X. Esse teste, padronizado pela Associação Internacional de Análise de Sementes, permite a visualização da posição, forma e deformações que ocorrem com o eixo embrionário das sementes (GOMES JUNIOR, 2010; LUZ, 2010; VAZ MONDO; CICERO, 2005).

Os raios-X são ondas eletromagnéticas que se propagam na velocidade da luz, mas com comprimento de ondas variáveis. Raios-X de alta energia (ondas curtas) são mais apropriados para objetos grandes e/ou densos, já os raios-X de baixa energia (ondas longas) são apropriados para objetos pequenos como as sementes (BRASIL, 2009).

De acordo com Simak e Gustafsson (1953), utilização dessa técnica para avaliação de estruturas internas em sementes é atribuída, com a identificação de anormalidades no embrião de sementes de espécies florestais.

Apesar de serem danosos, causando mutações em sementes, a pequena dose de radiação, usada durante o teste para avaliação da qualidade das sementes, não causa danos à maioria das espécies (CARVALHO; OLIVEIRA, 2006). E por isso, o teste de raios-X vem sendo utilizados para sementes de várias espécies, como: milho (CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003; CICERO et al., 1998; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012), soja (FERREIRA PINTO; CICERO; FORTI, 2007; FLOR et al., 2004), feijão (FORTI; CÍCERO; PINTO, 2008; VAZ MONDO et al., 2009).

Em sementes de milho, Carvalho et al. (1999), ao realizarem a caracterização de danos em pré-colheita, relataram que o teste de raios-x permite a visualização de danos internos invisíveis a olho nu, que ocorriam com maior frequência na posição perpendicular ao eixo embrionário, o que prejudicava a germinação das sementes, já que esse tipo de dano provavelmente afeta a translocação de nutrientes durante o processo germinativo.

Resultado também encontrado por Cícero e Banzatto Júnior (2003) que estudaram a relação dos danos mecânicos encontrados pelo teste de raios-X e o

vigor de sementes de milho. Nesse trabalho, os autores concluíram que quando o dano ocorre no sentido longitudinal, na região intermediária da semente, superficialmente e sem atingir o eixo embrionário, originam-se plântulas normais; porém quando o dano é profundo e afeta o eixo originam-se plântulas anormais, o mesmo ocorre quando os danos ocorrem no sentido transversal, pois esse tipo de dano compromete a translocação de nutrientes, dando origem a sementes mortas e plântulas anormais.

A fim de determinar a qualidade fisiológica de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga, Vaz Mondo e Cícero (2005) utilizaram o teste de raios-X para visualizar as estruturas internas e identificar a presença de danos, o que permitiu concluir que as sementes intermediária e proximal da espiga apresentam-se com qualidade semelhante e superiores às da posição distal, e que, as alterações nos eixos embrionários identificadas por manchas escuras no teste de raios-X, presentes em maior quantidade na posição distal são responsáveis pela redução da qualidade das sementes.

2.5 Microrganismos e armazenamento

Ao estudar a relação entre dano mecânico, a presença de microrganismos e o desempenho fisiológico, Cícero e Silva (2003) utilizou sementes intactas, danificadas na região da calota endospermática, no ápice do escutelo e na camada negra inoculadas com patógenos. O autor concluiu que os danos em sementes de milho, quando há presença de *Aspergillus* sp. e *Fusarium moniliforme*, apresentam prejuízos progressivos à medida que se aproximam do embrião e, quando comparadas entre si, as interferências negativas de *Aspergillus* sp. e *Fusarium moniliforme* são maiores do que as de *Penicilium* sp..

Com o propósito de estudar as relações existentes entre a ocorrência de danos mecânicos, o tratamento fungicida e a incidência de patógenos, Marchi et

al. (2006) verificaram que houve aumento na incidência de fungos com o aumento da incidência de danos, e os fungos que tiveram a maior incidência foram *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium* sp..

Os principais fungos que infestam ou infectam as sementes de milho são *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium acremonium*, em condições de campo de produção de sementes, e *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., em condições de armazenamento (SMIDERLE; GIANLUPPI; MOURÃO JÚNIOR, 2003).

Nas regiões tropicais, o armazenamento é uma das maiores limitações à manutenção da qualidade fisiológica das sementes. Vários são os fatores que influenciam a conservação da viabilidade e vigor das sementes durante o armazenamento: qualidade inicial da semente, vigor da planta mãe, condições climáticas durante a maturação, danos mecânicos, condições de secagem, adequado teor de água, umidade relativa do ar, temperatura de armazenamento, ação de fungos e insetos, tipos de embalagens e duração do armazenamento (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Durante o armazenamento ,as sementes estão sujeitas à deterioração devido às interações entre os aspectos físicos, químicos e biológicos representados, principalmente, pela temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio, microrganismos, insetos e roedores, porém, podem ser armazenadas por longos períodos de tempo, sem perdas significativas de qualidade, desde que sejam tomadas medidas preventivas (MARTIN et al., 2007).

O tempo de armazenamento de sementes danificadas por impacto é um fator importante, pois o efeito dos danos irão se agravar com o decorrer do tempo, afetando o potencial de armazenamento do produto (ARAÚJO et al., 2002). O que é agravado, uma vez que essas injúrias mecânicas são prejudiciais ao desempenho da cultura, e o efeito gerado ganha maior importância, em virtude da abertura de canais para entrada de microrganismos patogênicos.

2.6 Tratamento químico de sementes de milho

A utilização de sementes sadias é um dos principais requisitos para obtenção de bons rendimentos e por isso o tratamento químico de sementes vem se tornando um dos principais métodos utilizados. Sendo visto também, como alternativa para assegurar a qualidade das sementes de milho durante o armazenamento, pois um dos maiores problemas na sua produção e conservação diz respeito às pragas durante o armazenamento (MARTIN et al., 2007).

De acordo com Aguilera et al. (2000) o uso de fungicidas e inseticidas em sementes de milho é fundamental devido ao longo período e às condições de armazenamento.

O tratamento químico com fungicida e inseticida aumenta o desempenho das sementes, principalmente daquelas espécies de alto valor comercial (BAUDET, 2006) e é utilizado como ferramenta de proteção à semente, tanto no campo como no armazenamento (JULIATTI, 2010).

Devido a esse fator diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos a fim de verificar o efeito do tratamento químico sobre a qualidade fisiológica das sementes e seu efeito sobre o potencial de armazenamento das mesmas.

Com o intuito de verificar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de milho tratadas com fungicidas durante o armazenamento, Matos et al. (2013) concluíram que dentro de cada época avaliada (0, 30, 60, 90, 120, 180 dias) e cada tratamento químico utilizado (misturas dos fungicidas pyraclostrobin+tiofanato metílico e carbendazim+thiram+ micronutrientes), o tratamento reduz a incidência do fungo *Fusarium verticillioides*, com aumento significativo do percentual de germinação, tendo efeito positivo, também, sobre o vigor das sementes, após seis meses de armazenamento em condições ambiente.

Avaliando a germinação de sementes de milho tratadas com inseticidas (Standak, Cruiser e Cropstar), Salgado e Ximenes (2013) armazenaram as sementes por 0, 5 e 10 dias após o tratamento. Os autores verificaram que os tratamentos com inseticida, independente do período de armazenamento, tiveram de modo geral maior número sementes não germinadas nos tratamentos químicos com Cruiser e Cropstar. Os autores observaram também uma tendência do aumento no número de sementes não germinadas para alguns tratamentos quando se aumenta o período de armazenamento. Concluindo que o tratamento de sementes com inseticida e o armazenamento influenciam na germinação da semente, ocorrendo um decréscimo da porcentagem de sementes germinadas no decorrer do armazenamento.

Verificando o potencial fisiológico de sementes de milho híbrido tratadas com inseticidas Tonin et al. (2014) utilizaram os inseticidas Thiametoxan, Neonicotinóide e Neonicotinóide + (Imidaclopride + Thiodicarbe), sendo as sementes armazenadas por 270 dias, em dois ambientes, sendo um com controle de temperatura (10°C) e umidade relativa (60%) e outro em condições normais de armazenamento. Os autores concluíram a qualidade das sementes armazenadas de milho híbrido, tratadas com inseticidas é influenciada pelo produto químico empregado no tratamento das mesmas, dependente do híbrido e das condições do ambiente de armazenamento. A redução na viabilidade e no vigor de sementes de milho híbrido tratadas com Thiametoxan acentua-se com o prolongamento do período de armazenamento.

Diante do exposto, verifica-se a importância de se aprofundar os estudos do efeito do tratamento químico e do armazenamento sobre a qualidade de sementes de milho com dano mecânico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizadas sementes de um híbrido comercial, susceptível a danos mecânicos, produzidas em Ituiutaba – Minas Gerais, da safra 2013/2014, recém-colhidas, peneira 18 – M1, fornecidas pelo SeedCare Institute.

As sementes do lote original foram avaliadas individualmente quanto à presença de danos mecânicos por meio do teste de raios-X. Para isso, foram dispostas sobre fitas adesivas transparentes de dupla face, aderidas a um filme de poliéster 100/115 microns ultraclear, sendo identificadas quanto à posição na folha. Foram submetidas à análise radiográfica automática, utilizando o equipamento Faxitron[®] HP MX-20 digital. Separando em sementes sem danos e sementes com dano, foi possível a composição de 3 diferentes lotes: o lote 1 composto de sementes do lote original, o lote 2 composto de sementes sem danos e o lote 3 composto apenas de sementes com danos.

Em seguida, parte das sementes de cada lote foi submetida a diferentes métodos de identificação de danos mecânicos para determinação da melhor metodologia a ser utilizada. Foram realizados os seguintes procedimentos: primeiramente, foi feita a avaliação visual por meio da lupa, utilizou-se uma lupa estereoscópica comum, em seguida foi feita a avaliação por meio do SAS (Sistema Analisador de Sementes) utilizando o equipamento versão Advanced de bancada, e por último a avaliação das sementes submetidas ao corante fast green. Para a aplicação do corante, as sementes foram colocadas em solução 0,1% por dois minutos, em seguida foram lavadas em água corrente para retirar o excesso do produto. Ressalta-se ainda que para realização da avaliação visual das sementes, por essas diferentes metodologias, foram utilizadas as mesmas

sementes, no total de 200 sementes por lote, separadas em quatro repetições de 50 sementes.

Posteriormente, foi determinada a qualidade fisiológica de cada lote, por meios das seguintes determinações e testes:

Para determinação do **Teor de água**, utilizou-se o método de estufa a 105°C durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras de cada tratamento, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem média (base úmida).

No **teste de germinação** foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes distribuídas sobre substrato rolo de papel umedecido com uma quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso seco do substrato e colocado em germinador à temperatura de 25°C ± 2°C. A contagem das plântulas foi realizada aos quatro e sete dias após a semeadura (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais. A **Primeira Contagem de Germinação (PC)** – foi realizada juntamente ao teste de germinação, avaliando-se o número de plântulas normais aos quatro dias após a semeadura.

O **teste de emergência** foi realizado com quatro repetições de 50 sementes em bandejas plásticas contendo areia e solo misturados na proporção de 2:1, a uma profundidade de 1,5 cm. Após a semeadura, as bandejas foram distribuídas ao acaso em uma câmara de crescimento vegetal, com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A irrigação do substrato foi realizada a cada dois dias, com o mesmo volume de água para cada bandeja. A emergência das plântulas foi computada quando se estabilizaram, avaliando-se o número de plântulas normais aos dez dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem. O **Índice de Velocidade de Emergência (IVE)** – a partir do início da emergência, foram realizadas avaliações diárias, e computado o

número de plântulas emergidas. O cálculo do índice de velocidade de emergência foi feito conforme a fórmula proposta por (MAGUIRE, 1962).

Para o **teste de frio sem solo**, foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes que foram distribuídas em papel *germitest* umedecido com água destilada numa proporção de 2,5 vezes o seu peso seco. Os rolos foram confeccionados como no teste de germinação e colocados no interior de sacos plásticos sendo mantidos em câmara regulada a 10 °C durante 7 dias. Decorrido este período, os rolos foram transferidos para o germinador, regulado a 25 °C, e após 7 dias foi avaliado o número de plântulas normais, sendo consideradas normais aquelas que apresentarem pelo menos 2 cm de parte aérea, duas raízes seminais e a raiz principal (DIAS; BARROS, 1995).

Para o **teste de envelhecimento acelerado**, o método utilizado foi o de minicâmaras do tipo “*gerbox*” onde as sementes foram dispostas sobre uma tela suspensa no interior da caixa contendo 40 mL de água. As caixas foram acondicionadas em BOD durante 96 horas à temperatura de 41 °C, e em seguida foi efetuado o teste de germinação como descrito anteriormente (VIEIRA; CARVALHO, 1994). As avaliações foram realizadas ao 7º dia, após a semeadura, computando-se o percentual de plântulas normais.

O **teste de tetrazólio** foi realizado com 200 sementes por lote (quatro repetições de 50 sementes), que foram hidratadas (imersão) em água por 14 horas e posteriormente cortadas longitudinalmente com o auxílio de um bisturi. Depois, foram imersas na solução 2, 3, 5 trifetil tetrazólio a 0,5% por 4 horas a 30°C, no escuro, após este período foram lavadas em água corrente e avaliadas quanto a viabilidade e a presença de danos.

O **teste de condutividade elétrica** foi conduzido seguindo a metodologia proposta por Brandão Júnior et al. (1997), no qual 200 sementes distribuídas em quatro repetições de 50 sementes foram pesadas e colocadas para embeber em copos plástico de 200 mL contendo 75 mL de água deionizada,

mantidas em BOD a uma temperatura de 25 °C por um período de 24 horas, e em seguida foram realizadas as leituras da condutividade em um condutivímetro DIGMED CD-21 e os resultados expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes.

O **teste de sanidade** das sementes foi avaliado pelo método de *Blotter test* com congelamento. Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes distribuídas em placas de Petri (15 cm de diâmetro), contendo três folhas de papel de filtro, previamente esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas por 24 horas à temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, e transferidas para o freezer por mais 24 horas e novamente incubadas à temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por cinco dias. Para a identificação da incidência de fungos nas sementes, foi utilizado o microscópio estereoscópio e os resultados expressos em porcentagem de sementes contaminadas.

Para as **análises eletroforéticas de enzimas**, foram obtidas duas amostras de 20 gramas de cada tratamento e armazenadas à temperatura de -86°C em *deep freezer*. Posteriormente, as sementes foram trituradas na presença de PVP e nitrogênio líquido em cadinho e, posteriormente, armazenadas à temperatura de -86°C . A análise das enzimas foi feita por meio da técnica de eletroforese.

Para a extração das enzimas álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), foi utilizado o tampão Tris-Hcl 0,2M pH8,0 + 0,1% β -Mercaptoetanol, na proporção de 300 μL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido por 2h em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 60 minutos, a 4°C , e os géis foram revelados segundo metodologia proposta por Alfenas (2006).

A corrida eletroforética ocorreu em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado

foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50 µL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V por 5 horas.

Após a obtenção dos resultados fisiológicos, as sementes de cada lote foram divididas em duas partes, sendo uma submetida ao tratamento químico com o fungicida Maxim[®] Advanced composto por Metalaxil-M, Tiabendazol e Fludioxonil, e o inseticida Cruiser[®] composto por Thiametoxam. O tratamento foi realizado industrialmente, aplicando-se as doses recomendadas pelo fabricante. A outra parte de cada lote recebeu apenas a quantidade de água que foi utilizada em cada produto para formação da calda.

Após o tratamento químico, uma parte das sementes de cada lote, foi avaliada quanto à qualidade fisiológica (teor de água, germinação, primeira contagem, emergência, índice de velocidade de emergência, teste de frio sem solo, envelhecimento acelerado, tetrazólio, *blotter test*, enzimas), sendo outra parte armazenada em condição ambiente (25 °C/75% UR) por 90 dias. Após o período de armazenamento, os lotes foram novamente avaliados quanto à qualidade fisiológica de acordo com a época anterior.

Para a análise estatística utilizou-se para a primeira parte do experimento, caracterização dos lotes, o delineamento inteiramente casualizado, com um único fator (lotes), para a segunda parte do experimento utilizou-se o mesmo delineamento experimental no esquema fatorial 3x2x2, sendo três lotes de sementes, tratadas e não tratadas, em duas épocas de armazenamento. As análises foram realizadas por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), para as comparações de médias foi utilizado o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do Perfil dos Lotes

As sementes foram separadas quanto a presença de danos mecânicos por meio da análise de raios-X, e em seguida, as mesmas sementes foram submetidas a outras metodologias para identificação de danos mecânicos, fast green, lupa, SAS, para que se pudesse comparar as diferentes metodologias e assim determinar a mais eficiente para separação das sementes quanto aos danos (Tabela 1).

Tabela 1 Porcentagem de sementes com dano encontradas por cada metodologia (F=Fast Green; L=Lupa; SAS=Sistema de Análise de Sementes; RX=Raios-X)

Lotes	F	L	SAS	RX
1- Original	24	9	0	53
2 - Sem danos	21	0	0	0
3 - Com danos	26	11	0	100

A análise radiográfica, foi eficiente na identificação de sementes com danos invisíveis a olho nu (danos latentes). A utilização da lupa, apesar de permitir a visualização de trincas e quebras, não permite visualizar danos internos, e por isso não se mostrou tão eficiente tanto quanto à técnica de raios-X. Pelo SAS não foi possível identificar diferenças entre as sementes dos três lotes. Com auxílio do corante *fast green* foi possível identificar de 21% a 26% de sementes com dano, porém não se mostrou eficiente pelo fato de que as sementes identificadas não necessariamente continham danos quando correlacionadas com as observações do teste de raios-X.

O híbrido utilizado nesse estudo possuía rugosidade no pericarpo e o corante, em alguns casos, coloriu esta rugosidade, o que levou a considerar como dano, levando a classificação errônea da semente (Figura 1).

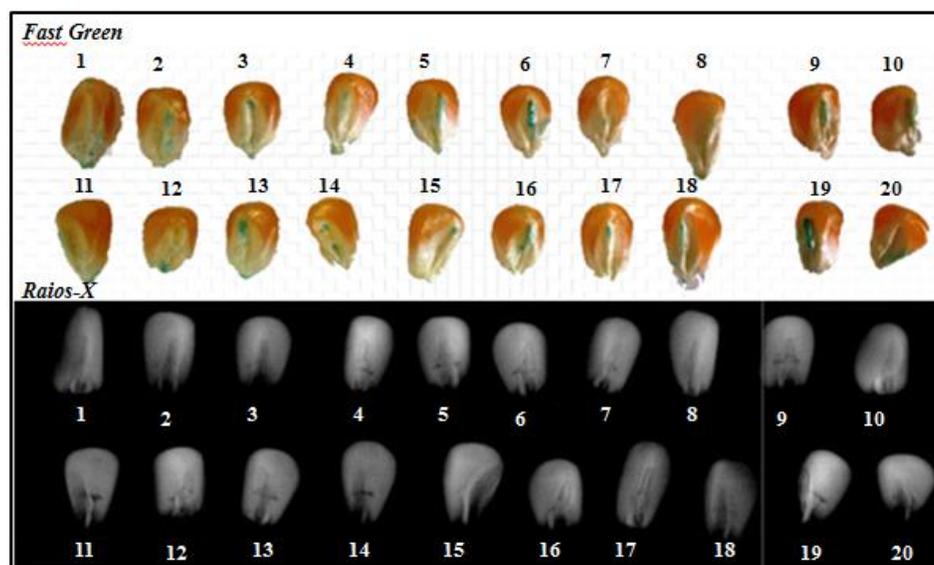


Figura 1 Sementes de milho submetidas ao corante *Fast Green* e posteriormente ao teste de Raios-X para avaliação de danos mecânicos

Os resultados encontrados na avaliação visual, principalmente com relação ao teste de raios-X, são coerentes com os resultados encontrados por outros autores, os quais também utilizaram a técnica para identificação de danos e concluíram que a técnica é eficiente para identificação de danos mecânicos em sementes de milho e também para outras culturas, como por exemplo, a soja e mamona (CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010; CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003; FERREIRA PINTO; CICERO; FORTI, 2007; VAZ MONDO; CÍCERO, 2005).

Por isso, para a separação dos lotes utilizou-se a técnica de raios-X, dessa forma, a partir do material recebido foi possível constituir três lotes de sementes,

lote 1 composto por sementes do lote original, sem separação, lote 2 composto por sementes sem danos mecânicos e o lote 3 composto por sementes com danos mecânicos.

Na caracterização do perfil dos lotes o grau de umidade variou de 8,90% a 9,32%. Ressalta-se a importância de se ter lotes com a menor variação possível no teor de água, pois com altos valores acelera-se o processo de deterioração, e formação de produtos que aceleram os danos imediatos como descrito por Marcos Filho (2015).

Foi possível observar pelos resultados dos testes de germinação (G), primeira contagem da germinação (PC), emergência (E) e teste de frio (TF) que os lotes 1 (original) e lote 2 (sem danos) foram estatisticamente semelhantes e superiores ao lote 3 (com danos). Já para o teste de envelhecimento acelerado (EA), os resultados dos lotes 1 e 3 foram semelhantes e inferiores ao lote 2. Para os demais testes, índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE), não houve diferença significativa entre os lotes (Tabela 2).

Tabela 2 Resultados fisiológicos de três lotes de sementes de milho

Lotes	GU (%)	G (%)	PC (%)	E (%)	IVE	TF	EA	CE
1 - Original	9,22	98 A	96 A	100 A	12,27	98 A	94 B	12,48
2 - Sem danos	9,32	98 A	94 A	100 A	12,36	98 A	98 A	12,00
3 - Com danos	8,90	88 B	87 B	98 B	12,09	90 B	92 B	12,47
CV%	3,62	2,38	2,47	0,58	2,43	3,76	1,46	3,88

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Estes resultados evidenciam que a presença de danos nas sementes prejudica o seu potencial fisiológico. Como se pode observar, houve queda do percentual de G e vigor, avaliado pelos testes de PC, E, IVE, TF, EA no lote

com danos nas sementes. Ressalta-se ainda que, os efeitos dos danos são mais evidenciados quando as sementes são submetidas ao envelhecimento acelerado. De uma maneira geral, a redução da qualidade pode estar relacionada com a má formação da plântula quando o dano ocorre próximo ou no eixo embrionário (GOMES JÚNIOR; CÍCERO, 2012), e também ao processo de deterioração, pois esses danos tornam-se porta de entrada para microrganismos. Segundo Marchi et al. (2006) o potencial fisiológico e a incidência de fungos são influenciados negativamente com o aumento da proporção de danos nas sementes.

Resultado semelhante foi encontrado por Oliveira et al. (1997), trabalhando com efeito do método de colheita na qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho. Segundo esses autores, sementes colhidas mecanicamente apresentaram 18 pontos percentuais a mais de danos mecânicos com relação às colhidas manualmente, o que pode justificar os resultados inferiores encontrados nos testes de germinação, de frio, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência e estande aos 15 dias para essas sementes.

Em outro trabalho realizado por Netto et al. (1999), os autores relataram redução significativa da germinação e do vigor, quando sementes de sorgo apresentaram até 5% de dano. Concluíram que há efeito prejudicial dos danos mecânicos sobre a germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio, índice de velocidade de emergência e população inicial de plantas de sorgo.

Pelo teste de CE não foi possível separar os lotes quanto à qualidade fisiológica. Este teste se baseia na integridade dos sistemas de membranas, sendo um dos primeiros sinais da deterioração justamente a alteração ou perda da capacidade desses sistemas. Esse atributo não foi determinante para a redução do potencial fisiológico das sementes.

Este resultado é contrário ao encontrado por Gomes Junior (2009), Menezes, Lersch Junior e Storck (2002) e Ribeiro et al. (2009). Em ambos os trabalhos, os autores verificaram aumento dos valores de condutividade elétrica quando há presença de danos mecânicos, sendo possível a separação dos lotes em diferentes níveis de vigor por este teste.

A não significância da CE pode ser explicada pelo fato de que as sementes com dano apresentaram em sua grande maioria apenas danos internos (danos latentes), o que foi comprovado pela análise visual realizada nos lotes (tabela 1).

Pelo teste de tetrazólio (tabela 3) também foi possível a identificação de danos e a separação dos lotes em três níveis de qualidade, sendo o lote 2 o de melhor qualidade, apresentando o menor número de sementes com danos e inviáveis, seguido pelo lote 1, que apesar de ter obtido o maior número de sementes com danos, apresentou quantidade inferior de sementes inviáveis se comparado com o lote 3, que, por sua vez, foi o lote de pior qualidade, apresentando números elevados de sementes com danos e inviáveis. Ao estudarem a contribuição das etapas do beneficiamento na qualidade fisiológica de sementes de dois híbridos de milho, Ferreira e Eustáquio de Sá (2010), relataram que o teste de tetrazólio tinha se mostrado promissor na determinação da viabilidade e vigor de sementes de milho, e por meio deste os autores verificaram um aumento da porcentagem de sementes viáveis no decorrer do beneficiamento.

Tabela 3 Porcentagem média de sementes viáveis com danos (VCD), viáveis sem dano (VSD) e inviáveis (IN) obtidas pelo teste de tetrazólio (TZ)

Lotes	VCD	VSD	IN
1 - Original	31 B	66 B	11 B
2 - Sem danos	20 A	75 A	6 A
3 - Com danos	33 B	53 C	16 C
CV	13,57	7,51	17,12

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

O teste de sanidade (*Blotter Test*) identificou cinco diferentes gêneros de fungos: *Drechsrela* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp.. Os gêneros *Drechsrela* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. foram encontrados em ambos os lotes, sendo o *Fusarium* em maior quantidade, principalmente no lote 3, o qual apresentou elevado número de sementes contaminadas (Tabela 4). O que pode estar relacionado com a maior incidência de fungos na presença de danos, pois os danos são porta de entrada para patógenos.

Tabela 4 Número de sementes infestadas por fungos em três lotes de sementes de milho identificados por meio do Blotter Test

Gêneros Fungos	Lote 1	Lote 2	Lote 3
	Original	Sem danos	Com danos
<i>Drechsrela</i>	1	1	1
<i>Fusarium</i>	31	29	48
<i>Nigrospora</i>	1	0	0
<i>Penicillium</i>	1	6	3
<i>Trichoderma</i>	1	0	4
Total	42	36	56

Este resultado condiz ao encontrado por Marchi et al. (2006), o qual relatou que houve aumento da incidência dos fungos com o aumento da incidência de danos mecânicos nas amostras, e os fungos que tiveram a maior incidência foram *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium* sp..

O *Fusarium* sp. é um gênero que se destaca pela frequência e porcentagem de ocorrência (CAPPELIN et al., 2005). Algumas espécies do gênero *Fusarium* sp. têm sido associadas a doenças do milho, e por isso estes patógenos são economicamente importantes para os cereais, pois podem causar perdas substanciais em produtividade e na qualidade de sementes. Esses fungos podem sobreviver no solo por meio de estruturas de resistência e, ainda, em estruturas internas das sementes, como o embrião. A diagnose preventiva, antes da semeadura, assim como o tratamento químico de sementes, são medidas que auxiliam no combate a doenças ocasionadas por *Fusarium* sp. (RAMOS et al., 2014).

Em estudo sobre a relação entre os danos mecânicos, a presença de microrganismos e o desempenho fisiológico, Cícero e Silva (2003) relataram que as danificações em sementes de milho, particularmente quando *Aspergillus* sp. e *Fusarium moniliforme* acham-se presentes, promovem prejuízos quantitativos progressivos à medida que se aproximam do embrião.

Para os sistemas enzimáticos avaliados, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), malato desidrogenase (MDH) e álcool desidrogenase (ADH), pode-se observar que não houve variação na atividade das enzimas entre os lotes.

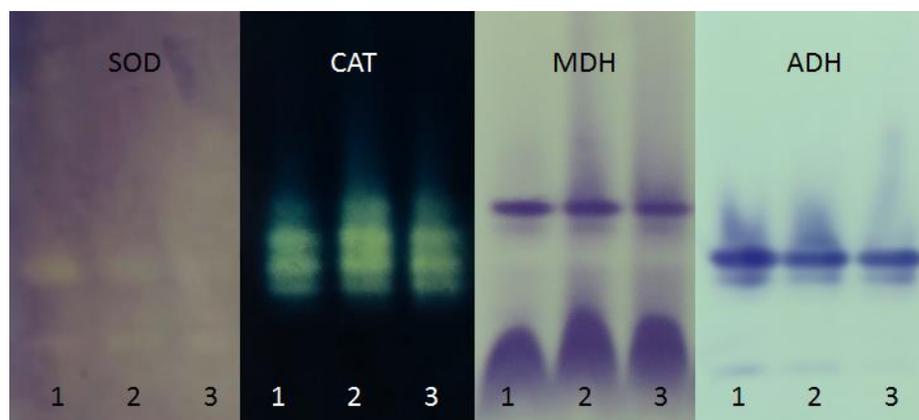


Figura 2 Padrões eletroforéticos das enzimas SOD, CAT, MDH e ADH de três lotes de sementes de milho

Esse resultado era esperado, já que o material era recém-colhido e não tinha sido submetido a nenhum tipo de estresse que gerasse maior deterioração das sementes, como o tratamento químico e o armazenamento, apesar dos danos encontrados.

Pelo resultado dos testes de viabilidade e vigor realizados para obtenção dos perfis dos lotes, foi possível classificá-los da seguinte maneira: o lote , com danos, sendo o de qualidade fisiológica inferior, seguido pelo lote 1, lote original, e finalmente o lote 2, sem danos, como sendo o de maior qualidade.

4.2 Qualidade fisiológica das sementes tratadas aos 0 e 90 dias

Após o tratamento químico, as sementes foram avaliadas quanto à viabilidade e vigor.

A germinação das sementes não foi influenciada pelo tratamento químico e nem pelo armazenamento (tabela 5), Houve variação apenas entre lotes, que foram agrupados em dois níveis, sendo os lotes 1 e 2 semelhantes e superiores ao lote 3.

Tabela 5 Porcentagem média de germinação e primeira contagem após o tratamento químico e armazenamento de sementes de milho por 90 dias

Germinação		
Lotes	G(%)	
1 – Original	99 A	
2 – Sem danos	100 A	
3 – Com danos	98 B	
CV(%)	1,41	
Primeira Contagem		
Lotes	Armazenamento (dias)	
	0	90
1 – Original	99 Aa	85 Bb
2 – Sem danos	100 Aa	93 Ab
3 – Com danos	98 Aa	84 Bb
CV (%)	3,70	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Dentre os fatores que afetam a conservação das sementes encontram-se a temperatura e umidade relativa, que afetam diretamente na deterioração das sementes (TIMÓTEO; MARCOS FILHO, 2013). Como os lotes estavam armazenados no mesmo ambiente, a diferença entre os três ocorreu devido aos níveis de deterioração em que se encontravam as sementes, evidenciando mais uma vez a influência negativa dos danos mecânicos sobre a qualidade das sementes.

Outro ponto que deve ser levado em consideração é o tempo de armazenamento. No presente trabalho, as sementes ficaram armazenadas por 90 dias, o que parece ser insuficiente para afetar a germinação, o que pode ser confirmado com os resultados encontrados por Timóteo e Marcos Filho (2013). Os autores relataram que sementes tratadas com fungicida e inseticida de três diferentes híbridos de milho, apresentaram redução da germinação a partir de nove meses de armazenamento, e dependendo do genótipo, essa redução pode ser visualizada apenas 15 meses após o armazenamento.

Por outro lado, em trabalho realizado por Matos et al. (2013), os autores relataram que sementes de milho tratadas com diferentes formulações de fungicidas, obtiveram aumento no percentual de germinação quando comparadas à testemunha, não tratada. Também houve decréscimo do percentual de plântulas normais no decorrer do armazenamento, mas mesmo com esse declínio, as sementes ainda poderiam ser comercializadas por estarem dentro dos padrões da certificação.

No entanto esse período de armazenamento é suficiente para a redução do vigor das sementes, independente do lote como pode ser visualizado com os resultados para a primeira contagem da germinação (PC). Houve diferença significativa para lotes, armazenamento e para a interação Lotes x Armazenamento. Antes do armazenamento após o tratamento das sementes, os lotes não diferiram entre si e aos 90 dias após o tratamento de sementes, pelos resultados da PC pode-se agrupar os lotes 1 e 3 sendo ambos semelhantes e inferiores ao lote 2. Esse fato que pode estar relacionado à presença de danos latentes nas sementes que constituem estes lotes. Entretanto, o tempo influenciou no vigor, representado aqui pela primeira contagem, culminando na queda da porcentagem de plântulas normais aos 90 dias para os lotes 1 e 3 (Tabela 5).

No teste de emergência de plântulas houve diferenças apenas para armazenamento, sendo a porcentagem de plantas emergidas após 90 dias inferior, independente do lote e o do tratamento químico, ou seja, o tratamento químico e os diferentes lotes não influenciaram na emergência, sendo que antes do tratamento (0 dias), houve maior porcentagem de plântulas emergidas do que após ao armazenamento (90 dias); fato que pode ser justificado pela deterioração natural da semente durante o armazenamento.

Pelo índice de velocidade de emergência (IVE) obtiveram-se diferenças para lotes, armazenamento e para a interação lote x armazenamento. Agrupando os lotes da seguinte forma (tabela 6):

Tabela 6 Índice de velocidade de emergência (IVE) de três lotes de sementes aos 0 e 90 dias após o tratamento de sementes

Lotes	Armazenamento (dias)	
	0	90
1 – Original	10,04 Bb	11,67 Ba
2 – Sem danos	10,66 Ab	11,98 Aa
3 – Com danos	10,62 Ab	11,53 Ba
CV	2,91	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Pelos resultados do IVE, antes do armazenamento, os valores para os lotes 2 e 3 foram semelhantes e superiores ao valor encontrado para o lote 1, porém aos 90 dias, os lotes 1 e 3 se mostraram inferiores ao lote 2. Os danos encontrados em sementes do lote 1, assim como no lote 3, podem ter evoluído durante o período de armazenamento e desta forma terem contribuído para maior deterioração das sementes, culminando na redução da velocidade do arranque inicial desses lotes no segundo período avaliado. De acordo com Gomes Júnior et al. (2009), a perda da integridade das membranas celulares esta relacionada à perda de vigor, assim como os danos mecânicos, provocando o retardamento da germinação. Com relação ao armazenamento, em todos os lotes os valores do IVE foram maiores aos 90 dias, isso provavelmente se deve ao fato de o tratamento químico ter reduzido a incidência de patógenos de campo nas sementes, durante o armazenamento, propiciando a melhora no arranque da cultura em ambos os lotes, o que pode ser confirmado pelo resultado do *blotter test*.

Os resultados do teste de frio (TF) foram significativos apenas para tratamento químico e para interação Tratamento Químico x Armazenamento. Ou seja, independente do lote houve efeito do tratamento químico e do armazenamento sobre o vigor das sementes. Aos 90 dias de armazenamento o

tratamento químico influenciou positivamente a porcentagem de plântulas normais quando comparado com as sementes não tratadas (Tabela 7).

Tabela 7 Porcentagem média de plântulas normais obtidas no teste de frio por meio da testemunha e de sementes tratadas com 0 e 90 dias após o tratamento de sementes

Tratamento	Armazenamento (dias)	
	0	90
Não tratada (Testemunha)	94 Aa	93 Ba
Tratada Quimicamente	95 Aa	96 Aa
CV	1,90	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Este fato que pode ser explicado pelo efeito do tratamento químico sobre as sementes, protegendo-as contra fungos e pragas durante o armazenamento, o que pode ser confirmado pelo resultado do *Blotter Test*, no qual foi possível observar para ambos os lotes redução ou manutenção da incidência de fungos, já para as sementes que receberam apenas água houve aumento na incidência de fungos (Vide tabela 11).

Resultado semelhante foi encontrando por Von Pinho et al. (1995), quando estudaram o efeito do tratamento químico de sementes de milho com diferentes fungicidas. Nesse trabalho os autores concluíram que os diferentes tratamentos permitiram germinação e emergência, no teste de frio, superiores à testemunha não tratada.

Em outro trabalho, Tonin et al. (2014) trataram três híbridos de milho com três inseticidas distintos, Inseticida 1 (Thiametoxan); Inseticida 2 (Neonicotinóide) e Inseticida 3 [Neonicotinóide+(Imidaclopride+Thiodi-carbe)], armazenando-os por 270 dias em dois ambientes diferentes: um com controle da temperatura (10°C) e da umidade relativa do ar (60%) e outro em condição de

ambiente. Os autores concluíram que o vigor é influenciado pelo híbrido, pelo produto aplicado e pela condição de armazenamento. E que há redução da viabilidade e do vigor de sementes de milho híbrido tratadas com thiametoxan ao decorrer do armazenamento.

Pelo teste de envelhecimento acelerado (EA) pode-se distinguir os lotes em três níveis de qualidade, sendo o lote 2 com maior porcentagem de germinação após o EA e os lotes 1 e 3, semelhantes e inferiores a este. Quando se avaliou cada lote, pôde-se notar que apenas o lote 2 não foi influenciado pelo tratamento, de forma que comportamento semelhante foi observado entre as sementes tratadas e as que receberam apenas água. Já nos lotes 1 e 3 os valores de germinação após o EA, foram inferiores quando as sementes não foram tratadas quimicamente (Tabela 8). É possível observar o efeito positivo do tratamento químico nas sementes, provavelmente devido a ele as sementes mesmo sendo envelhecidas, ficaram protegidas contra o ataque de fungos.

Tabela 8 Médias de germinação (%) de sementes de milho tratadas e não tratadas submetidas ao teste de envelhecimento acelerado

Lotes	Tratamento	
	Não tratada (Testemunha)	Tratada Quimicamente
1 – Original	90 Bb	98 Aa
2 – Sem danos	96 Aa	98 Aa
3 – Com danos	85 Cb	98 Aa
CV	5,02	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Este resultado reforça também a ideia de que sementes com danos são mais susceptíveis ao ataque de fungos, o que provavelmente interferiu na capacidade dessas sementes suportarem o estresse causado pelo teste de envelhecimento acelerado.

Na tabela 9 pode-se observar a influência tanto do tratamento químico quanto do armazenamento na porcentagem de germinação após o teste de EA.

Tabela 9 Médias de germinação (%) para o teste de EA de sementes de milho submetidas ao tratamento químico e armazenamento

Armazenamento (dias)	Tratamento	
	Não tratada (testemunha)	Tratada Quimicamente
0	97 Aa	99 Aa
90	85 Bb	97 Aa
CV	5,02	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Nota-se que antes do armazenamento não houve influencia do tratamento químico no vigor das sementes, de forma de testemunha e sementes tratadas apresentaram médias de germinação para o EA, estatisticamente semelhantes.

Porém aos 90 dias, ao se comparar as sementes não tratadas com as sementes tratadas quimicamente, percebe-se que as primeiras obtiveram percentual de germinação inferior, o que pode ser explicado pelo efeito benéfico do tratamento químico sobre as sementes armazenadas, de forma que os produtos as protegeram contra a proliferação de fungos e ataques de pragas, fato que pode ser comprovado pelo resultado do teste de sanidade, no qual ficou claro a eficiência do fungicida no controle de fungos do gênero *Fusarium* principal fungo de campo, e durante a realização dos testes de viabilidade e vigor após o armazenamento verificou-se que as sementes estavam livres de pragas de armazenamento.

Para o teste de condutividade elétrica houve significância para lotes e para a interação lotes x armazenamento. Aos 0 dias não houve diferença significativa

entre os lotes, e aos 90 dias, a maior condutividade elétrica foi obtida no lote 3, sendo os lotes 1 e 2 semelhantes (Tabela 10).

Tabela 10 Condutividade elétrica média para cada lote durante o armazenamento ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$)

Lotes	Armazenamento (dias)	
	0	90
1 – Original	10,99 Aa	10,75 Ba
2 – Sem danos	11,21 Aa	10,83 Ba
3 – Com danos	10,67 Ab	12,33 Aa
CV	6,42	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Pode-se observar que houve aumento da condutividade elétrica no lote 3 aos 90 dias, quando comparado tanto com os outros lotes nesse mesmo período, assim como com o mesmo lote na primeira época de avaliação, evidenciando o efeito negativo do armazenamento e possivelmente do tratamento químico durante o armazenamento sobre as sementes com dano. Esse resultado condiz ao encontrado por Fessel et al. (2003), os quais analisaram a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho, e verificaram que a ocorrência de danos mecânicos propiciou o aumento da liberação de exsudatos, culminando no aumento da condutividade elétrica e conseqüentemente redução do vigor.

A condutividade elétrica tem sido proposta como um método de avaliação do vigor que relaciona a quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes à integridade das membranas celulares (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). A perda da integridade de membranas é o primeiro passo na deterioração de sementes, e no caso de sementes com danos, a capacidade ou a velocidade de reorganização do sistema de membranas esta

comprometido, e, dessa forma, estas sementes apresentam maiores valores de condutividade, ou maior liberação de lixiviados (FESSEL et al., 2010).

Para o teste de tetrozólíio foi possível observar que para as sementes viáveis com danos, o resultado foi significativo apenas para lotes, sendo o lote 3 com o maior número de sementes danificadas, seguindo pelo lote 1 e em seguida pela lote 2. Já para as sementes viáveis sem danos, o resultado do teste foi significativo tanto para lotes como para armazenamento. Ao analisar os lotes, nota-se que o resultado foi inverso ao encontrado para sementes com danos; nesse caso, o lote 2 apresentou o maior número de sementes sem danos, seguindo pelo lote 1 e por ultimo o lote 3, o qual apresentou um número elevado de sementes danificadas (tabela 11). Para o armazenamento foi possível observar que o número médio de sementes sem danificações aumentou durante o armazenamento, este fato pode estar relacionado à redução da incidência de patógenos durante o armazenamento, assim como uma possível redução do efeito fito tóxico dos produtos utilizados no tratamento químico das sementes.

Tabela 11 Número de sementes de milho, viáveis sem danos mecânicos, avaliadas por meio do teste de tetrazólio

Lotes	Sementes viáveis sem danos mecânicos
1 – Original	35,62 B
2 – Sem danos	39,06 A
3 – Com danos	30,62 C
CV	7,08

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Já para as sementes inviáveis, houve significância apenas para armazenamento, de forma que se obteve redução no número médio de sementes inviáveis após o armazenamento (aos 90 dias) se comparado ao número obtido

antes do armazenamento, assim como foi observado para as sementes viáveis sem danos.

Na tabela 12 se encontram os resultados encontrados na avaliação do *Blotter Test*.

Tabela 12 Número de sementes de milho com incidência de fungos avaliadas aos 0 e 90 dias após o tratamento de sementes

Fungos	0 dias						90 dias					
	L1	L1	L2	L2	L3	L3	L1	L1	L2	L2	L3	L3
	TQ	NT	TQ	NT	TQ	NT	TQ	NT	TQ	NT	TQ	NT
ASP	0	3	0	2	1	1	1	4	0	6	1	2
CLA	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
DRE	0	1	0	1	1	2	0	2	0	1	0	7
FUS	0	29	0	20	0	21	0	28	0	17	0	21
PEN	2	2	2	4	2	3	1	6	2	5	1	4
TOTAL	2	36	2	28	4	28	2	41	2	29	2	34

TQ – Tratadas quimicamente, NT – Não tratadas. ASP = *Aspergillus*, CLA = *Cladosporium*, DRE = *Dreschrela*, FUS = *Fusarium*, PEN = *Penicillium*

Dentre os fungos observados no teste de sanidade, houve maior incidência do fungo *Fusarium*, o qual se manifestou em todos os lotes nos quais as sementes não estavam tratadas quimicamente, independente do tempo de armazenamento. Embora a incidência desse patógeno tenha se reduzido aos 90 dias, os fungos desse gênero continuaram presentes, resultado encontrado, também, por Tanaka (2001), que armazenou sementes de milho com diferentes níveis de infestação por *Fusarium* em câmara fria e em condição ambiente. Após o período de armazenamento houve redução na incidência do patógeno, porém continuou viável, sendo a câmara fria o local de maior redução da incidência deste. Desta forma foi possível observar a eficiência do tratamento químico no

controle desse patógeno, e também, o comportamento do mesmo durante o armazenamento de sementes.

Esses fungos podem sobreviver no solo por meio de estruturas de resistência e também em estruturas internas das sementes, como no embrião, e o uso de sementes infectadas ou infestadas com *Fusarium* pode afetar negativamente a germinação, emergência e produtividade da cultura, e também contribuir para a disseminação do patógeno no campo. Porém é importante destacar que nem todas as espécies de *Fusarium* prejudicam a germinação.

Vários trabalhos foram desenvolvidos para verificar o efeito do *Fusarium moniliforme* na qualidade de sementes de milho, e por meio desses trabalhos pode-se afirmar que esse patógeno não altera a germinação das sementes (CAPPELINI et al., 2005; CATÃO et al., 2013; MORAES et al., 2003). Porém esse fungo está relacionado a doenças como podridão do colmo e da espiga e conseqüentemente acarretam queda da produtividade (CATÃO et al., 2013). Mas de acordo com Smiderle, Gianluppi e Mourão Júnior (2003), esta espécie e a espécie *Cephalosporium acremonium* são os principais fungos que infectam ou infestam em condições de campos de produção de sementes.

Em contrapartida os fitopatógenos *Fusarium verticillioides* e *F. graminearum* estão entre os mais importantes na cultura do milho, causando doenças diversas como podridão radicular, morte de plântulas, podridão de espiga, podridão de colmo, podendo levar a reduções na produtividade e qualidade (KUHNEM JÚNIOR; STUMPF; DEL PONTE, 2013).

Por isso, o tratamento químico das sementes e a diagnose preventiva são medidas que auxiliam no combate a doenças ocasionadas por *Fusarium* sp. (RAMOS et al., 2014).

Além do gênero *Fusarium*, outros gêneros, mesmo em menores intensidades, se destacam como *Aspergillus* sp., e *Penicillium* sp. que tiveram aumento na incidência aos 90 dias. Ambos os fungos são considerados de

armazenamento, e independente do tratamento químico se manifestaram. Resultado que também foi encontrado por Cardoso et al. (2004) e Oliveira et al. (1997), os quais relataram em seus trabalhos que os fungos desse gênero aumentam suas incidências durante o período de armazenamento, principalmente nas sementes que não receberam tratamento químico.

Em condições de armazenamento esses dois gêneros têm sido relatados como um dos principais em infectar ou infestar sementes no Brasil (SMIDERLE; GIANLUPPI; MOURÃO JÚNIOR, 2003). Estes são também indicadores de deterioração em sementes e grãos, causando alterações nutricionais e perda de matéria seca (HENNING, 2005).

Os dados fisiológicos são, em muitos casos, suficientes para determinar a qualidade de lotes de sementes; mas para complementar estas informações são utilizadas outras técnicas que verificam o grau de deterioração das sementes, como por exemplo, as análises enzimáticas (DEVI et al., 2007). Segundo Borba et al. (2014) os parâmetros relacionados à deterioração de sementes nem sempre são detectados por testes de viabilidade e vigor, sendo necessárias análises mais sensíveis que classifiquem tanto sementes oriundas de lotes homogêneos como também de lotes heterogêneos, quanto ao vigor.

Na figura 2 são apresentados os padrões eletroforéticos da enzima superóxido dismutase (SOD). Esta enzima está envolvida no processo de remoção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o radical de superóxido (O_2^-), por meio da dismutação do radical de superóxido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (CARNEIRO et al., 2011). Por meio da análise da imagem é possível observar a diminuição da atividade dessa enzima aos 90 dias. Provavelmente a SOD pode ter sido consumida na tentativa de eliminar substâncias oxidativas produzidas durante o período de armazenamento, independente do tratamento recebido. Nesse período a maior atividade da enzima foi no lote 3 das sementes que receberam tratamento químico. Fato que pode ser explicado pelo efeito

negativo do tratamento químico somado ao efeito negativo do armazenamento sobre as sementes com danos.

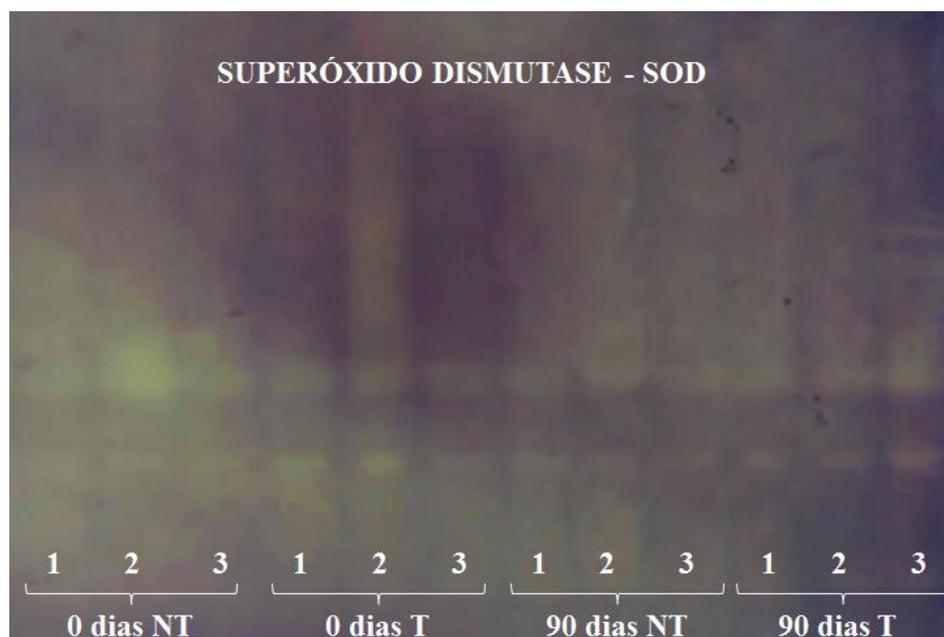


Figura 3 Padrões eletroforéticos da enzima superóxido dismutase (SOD) em sementes milho antes (0 dias) e aos 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratadas, T – Tratadas quimicamente)

Na figura 4 são apresentados os padrões eletroforéticos da enzima catalase (CAT). Essa enzima está envolvida no processo de remoção do peróxido de hidrogênio por meio do ciclo de óxido-redução, no qual o peróxido de hidrogênio é reduzido à água (H_2O) mais oxigênio (O_2). Por meio da análise da imagem é possível observar redução da atividade dessa enzima aos 90 dias de armazenamento, independente do tratamento recebido, porém nota-se maior redução da atividade da CAT para as sementes tratadas nesse período. Resultado que condiz ao encontrado para a enzima SOD.

A redução da atividade das enzimas removedoras de radicais pode estar relacionada à perda da viabilidade das sementes (BERJAK, 2006).

Provavelmente, os danos encontrados nas sementes dos lotes 1 e 3, que foram em grande maioria danos internos, podem estar contribuindo para a queda da qualidade dessas sementes. De modo geral, ao avaliar os testes fisiológicos, o armazenamento pouco influenciou na qualidade das sementes, porém pelos resultados dos testes de primeira contagem, emergência de plântulas e condutividade elétrica é possível observar que o armazenamento contribuiu para a redução do vigor. Principalmente para o lote 3, que se trata de sementes apenas com danos.

A redução da atividade da CAT pode tornar a semente mais sensível aos efeitos dos radicais livres e aumentar a formação de peróxidos nas células, contribuindo para a perda da viabilidade dessas sementes (TIMÓTEO; MARCOS FILHO, 2013).

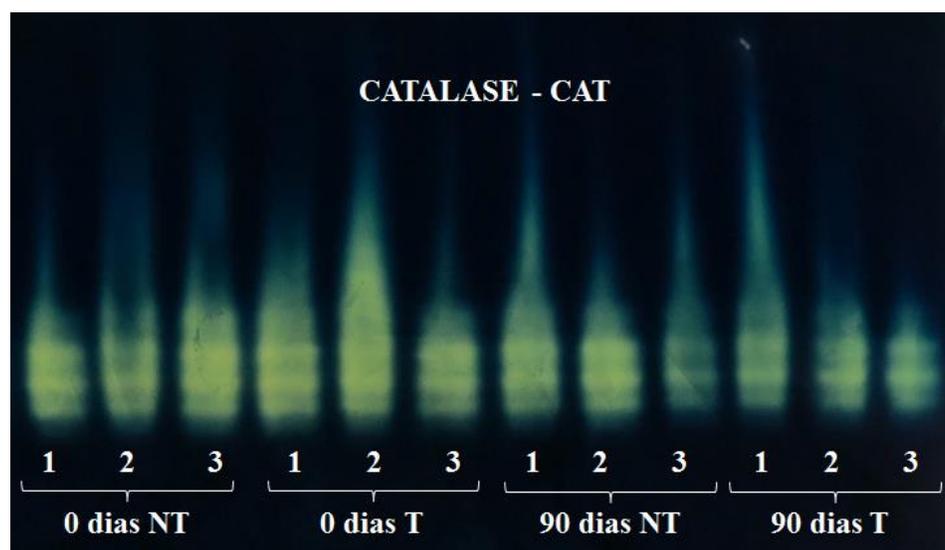


Figura 4 Padrões eletroforéticos da enzima catalase (CAT) em sementes de milho antes (0 dias) e aos 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratada, T – Tratada quimicamente)

Nas sementes mais desgastadas, com danos, observou-se menor atividade da CAT, este fato pode ser indicativo de que estas sementes estão com a capacidade de combater os efeitos negativos do peróxido de hidrogênio menor. Segundo Santos (2010), esta enzima pode ter sua atividade reduzida na medida em que se aumenta o grau de deterioração das sementes, o autor relatou que em sementes mais deterioradas observa-se redução acentuada na atividade dessa enzima chegando até a não ativação. Essa observação pode explicar a redução na atividade dessa enzima principalmente para o lote 3, independente da época ou tratamento, as sementes desse lote são sementes com danos, provavelmente com maior grau de deterioração, o que corrobora com o resultado do teste de germinação, o qual apresentou menor porcentagem de germinação para esse lote, independentemente do armazenamento e do tratamento recebido.

Resultado semelhante foi encontrado também por Heberle (2012) estudando a qualidade fisiológica e enzimática de sementes de milho armazenadas. O autor observou decréscimo progressivo da atividade dessa enzima ao longo do período avaliado, em todos os ambientes estudados, e relatou que a diminuição da atividade demonstra redução da capacidade de prevenção de danos oxidativos.

Na figura 4 apresentam-se os padrões eletroforéticos da enzima malato desidrogenase (MDH). Para esse sistema enzimático não houve diferença na atividade independente do tratamento ou do período avaliado, ou seja, a atividade respiratória não foi afetada pelo tratamento químico e nem pelos danos mecânicos.

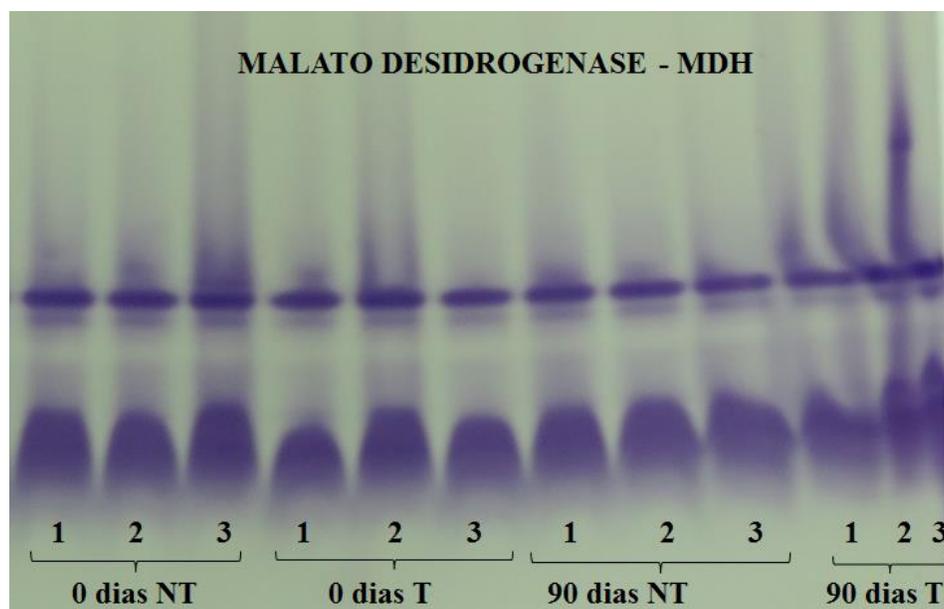


Figura 5 Padrões eletroforéticos da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de milho antes (0 dias) e 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratada, T – Tratada quimicamente)

Resultado semelhante foi encontrado por Brandão Júnior et al. (1999), em que os autores observaram que a atividade da MDH foi menos afetada pelos tratamentos de envelhecimento em sementes de milho, e também por Spinola, Cícero e Melo (2000) onde os autores relataram que a MDH manteve seus padrões isoenzimáticos inalterados com o avanço do processo deteriorativos das sementes por esse teste, assim como Taveira et al. (2012), que relataram que atividade da enzima MDH foi semelhante para todos os tratamentos de secagem em sementes de café.

Já na figura 5 estão os padrões eletroforéticos da enzima álcool desidrogenase (ADH), e por meio da análise da imagem pode-se verificar a redução da atividade dessa enzima durante o armazenamento. Porém, as sementes tratadas quimicamente apresentaram maior atividade dos que as sementes que receberam apenas água, independente do período avaliado.

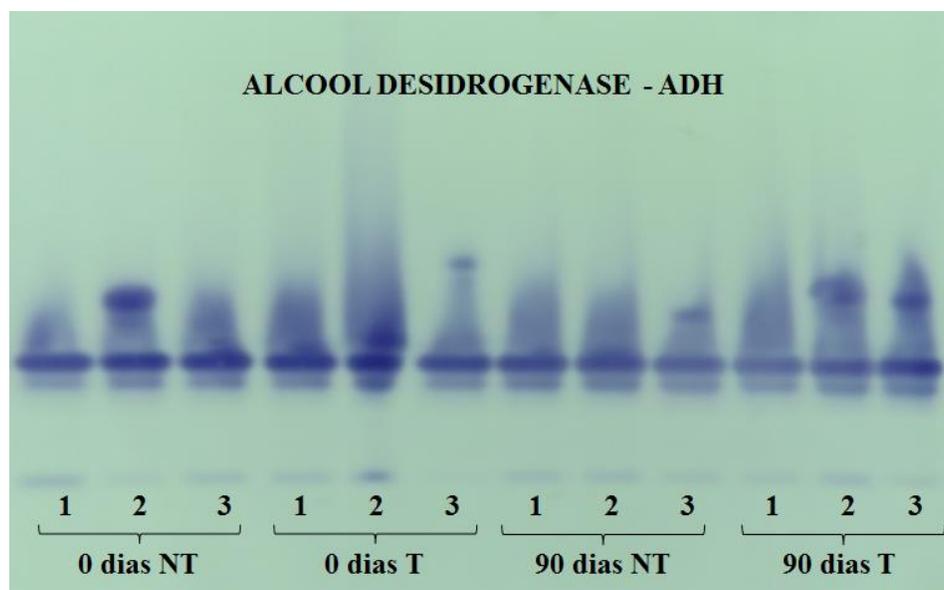


Figura 6 Padrões eletroforéticos da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de milho antes (0 dias) e aos 90 dias de armazenamento. (NT – Não tratada, T – Tratada quimicamente)

A maior atividade dessa enzima aos 0 dias, para as sementes que receberam tratamento químico, pode estar relacionada a algum estresse causado pela aplicação do produto, e possivelmente com o armazenamento pode ter ocorrido a degradação de algum componente do produto.

Resultado semelhante foi encontrado por Ferreira et al. (2007), no qual os autores relataram um aumento na atividade da ADH no tratamento químico pré-semeadura, e redução da atividade dessa enzima em sementes que foram tratadas 6 meses antes da semeadura.

Diante da análise dos dados fisiológicos, assim como dos zimogramas apresentados, pode-se inferir que o lote 2 (sementes sem danos) é o lote de melhor qualidade, por apresentar, na maioria dos testes realizados, resultados superiores aos demais lotes, principalmente após o armazenamento por 90 dias,

e que após o armazenamento, a atividade das enzimas reduziu o que pode estar relacionado com o processo de deterioração das sementes.

5 CONCLUSÕES

O tratamento químico de sementes de milho com o fungicida Maxim[®] Advanced é eficiente no controle de patógenos, como *Fusarium* sp..

O desempenho de sementes com danos externos e internos pode ser mantido por 90 dias quando tratadas com o fungicida Maxim[®] Advanced e o inseticida Cruiser[®] e armazenadas em condição ambiente.

Os padrões isoenzimáticos das enzimas CAT, SOD, MDH e ADH, confirmaram a maior deterioração de sementes não tratadas durante o armazenamento em comparação com as que foram tratadas.

Os danos mecânicos encontrados nas sementes contribuem para a redução da viabilidade e do vigor das sementes de milho.

REFERÊNCIAS

AGUILERA, L. A. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho em função da forma e do tratamento químico das sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 211-215, 2000.

ARAÚJO, E. F. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas à debulha, com diferentes graus de umidade. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 101-110, 2002.

ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2. ed. ampl. e atual. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.

BAUDET, L. Armazenamento de sementes. In: PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M.; ROTA, G. (Ed.) **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: UFPel, 2003. p. 370-416.

BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 16, p. 1-15, 2006.

BORBA, I. C. G. et al. Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 20-26, 2014.

BRANDÃO JÚNIOR, D. S. et al. Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 7, n. 1/2, p. 184, 1997.

BRANDÃO JUNIOR, D. S. et al. Avaliação de danos mecânicos e seus efeitos na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 53-58, 1999.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

CAPPELINI, L. T. D. et al. Efeito de *Fusarium moniliforme* na qualidade de sementes de milho. **Científica**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 185-191, 2005.

CARDOSO, P. C. et al. Armazenamento em sistema a frio de sementes de soja tratadas com fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 15-23, 2004.

CARNEIRO, M. M. L. C. et al. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 752-761, 2011.

CARVALHO, M. L. M.; ALVES, R. A.; OLIVEIRA, L. M. Radiographic analysis in castor been seeds (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 170-175, 2010.

CARVALHO, M. L. M. et al. Caracterização de danos de estresse em pré-colheita e seus efeitos na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 93-100, 1999.

CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, L. M. Raios X na avaliação da qualidade de sementes. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 16, n. 1/2/3, p. 93-99, 2006.

CARVALHO, M. L. M. Utilização da análise de imagem: conceitos, metodologia e usos. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 20, n. 3, p. 45-47, 2010.

CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C.; VON PINHO, E. R. Técnicas moleculares em sementes. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, Piracicaba, v. 3, n. 17, p. 44-47, 2000.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CATÃO, H. C. R. M. et al. Incidência e viabilidade de sementes crioulas de milho naturalmente infestadas com fungos em pré e pós-armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 5, p. 764-770, 2013.

CICERO, S. M.; BANZATO JUNIOR, H. L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2003.

CÍCERO, C. M.; SILVA, W. R. Danos mecânicos associados a patógenos e desempenho de sementes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 305-314, 2003.

COUTINHO, W. M. et al. Qualidade sanitária de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 458-464, 2007.

DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO. **Safra mundial de milho 2014/15**: 11º levantamento do USDA. São Paulo, 2015a.

DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO. **Safra mundial de milho 2015/16**: 11º levantamento do USDA. São Paulo, 2015b.

DEVI, R. et al. Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 61, n. 2, p. 167-174, 2007.

DIAS, M. C. L.; BARROS, A. S. R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1995. 41 p. (Circular, 88).

DUTRA, S. M. F. **Expressão de genes relacionados à tolerância a altas temperaturas e germinação em sementes de milho**. 2014. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

FERREIRA, L. A. et al. Bioestimulante e fertilizantes associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 80-89, 2007.

FERREIRA PINTO, T. L.; CICERO, S. M.; FORTI, V. A. Avaliação de danos por umidade, em sementes de soja, utilizando a técnica de análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 31-38, 2007.

FERREIRA, R. L. **Etapas do beneficiamento na qualidade física e fisiológica de sementes de milho**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista/Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2010.

FERREIRA, R. L.; EUSTÁQUIO DE SÁ, M. Contribuição de etapas do beneficiamento na qualidade fisiológica de sementes de dois híbridos de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 99-110, 2010.

FERREIRA, V. F. et al. Quality of maize seeds harvested and husked at high moisture levels. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 276-283, 2013.

FESSEL, S. A. et al. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 70-76, 2003.

FESSEL, S. A. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de soja armazenadas sob diferentes temperaturas. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 207-214, 2010.

FLOR, E. P. O. F. et al. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 68-76, 2004.

FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; PINTO, T. L. F. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos e causados por percevejos em sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 121-130, 2008.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. Qualidade de sementes: progressos no conceito de qualidade de sementes no Brasil. **Seed News**, Pelotas, v. 13, n. 6, p. 8-11, 2009.

GALVÃO, J. C. C. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de milho submetidas a diferentes épocas de colheita e métodos de debulha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 1, p. 14-23, 2014.

GARG, N.; MANCHADA, G. ROS generation in plants: boon or bane? **Plant Biosystems**, London, v. 143, n. 1, p. 81-96, 2009.

GOMES JUNIOR, F. G. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 20, n. 3, 2010.

GOMES JUNIOR, F. G.; CICERO, S. M. X-Ray analysis assess mechanical damage insweet corn seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 78-85, 2012.

GOMES JUNIOR, F. G. et al. Incidência de patógenos e vigor de sementes de milho doce submetidas a danos mecânicos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 35, n. 3, p. 179-183, 2009.

HENNING, A. A. **Patologia de sementes: noções gerais**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52 p.

HERBELE, E. **Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de milho armazenadas**. 2012. 56 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.

JALEEL, C. A. et al. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 60, p. 110-116, 2007.

JULIATTI, F. C. Avanços no tratamento químico de sementes. Informativo ABRATES, Curitiba, v. 20, n. 3, p. 54-55, 2010.

KUHNEM JÚNIOR, P. R.; STUMPF, R.; DEL PONTE, E. M. Características patogênicas de isolados do complexo *Fusarium graminearum* e de *Fusarium verticillioides* em sementes e plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 4, p. 583-588, 2013.

LUZ, R. P. et al. Análise de imagens radiográficas na avaliação da qualidade de sementes de girassol. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. 1 CD ROM.

MARCHI, J. L. et al. Relação entre danos mecânicos, tratamento fungicida e incidência de patógenos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho E Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 3, p. 351-358, 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. 659 p.

MARTIN, T. N. et al. Questões relevantes na produção de sementes de milho – primeira parte. **Revista da FZVA**, Porto Alegre, v. 14, n. 1, p. 119-138, 2007.

MATOS, C. S. M. et al. Health and physiological quality of corn seeds treated with fungicides and assessed during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 10-16, 2013.

MENEZES, N. L.; LERSCH JUNIOR, I.; STORCK, L. Qualidade física e fisiológica de sementes de milho após o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 97-102, 2002.

MORAES, M. H. D. et al. Controle químico de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho: metodologia de avaliação e efeitos sobre a qualidade fisiológica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 626-632, 2003.

NETTO, D. A. M. et al. Efeito de diferentes graus de danos mecânicos na qualidade fisiológica de sementes de sorgo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 8, p. 1475-1480, 1999.

OLIVEIRA, J. A. et al. Efeito do método de colheita na qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 200-206, 1997.

PAIVA, L. U.; MEDEIROS FILHO, S.; FRAGA, A. C. Beneficiamento de sementes de milho colhidas mecanicamente em espigas: efeitos sobre danos mecânicos e qualidade fisiológica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 846-856, 2000.

RAMOS, D. P. et al. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 24-31, 2014.

RIBEIRO, D. M. et al. Teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor de sementes em milho-pipoca (*Zea mays* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 56, n. 6, p. 772-776, 2009.

SALGADO, F. H. M., XIMENES, P. A. Maize seed germination treated with insecticides. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 4, n. 1, p. 49-53, 2013.

SANTOS, H. O. **Conservação de sementes de Mamona (*Ricinus communis* L.)**. 2010. 85 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SMIDERLE, O. J.; GIANLUPPI, D.; MOURÃO JÚNIOR, M. Tratamento e qualidade de sementes de milho durante o armazenamento em Roraima. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias E Ambientais**, Curitiba, v. 1, n. 4, p. 75-83, 2003.

SPINOLA, M. C. M.; CÍCERO, S. M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Califórnia: Cummings, 2004. 719 p.

TANAKA, M. A. S. Sobrevivência de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho mantidas em duas condições de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 60-64, 2001.

TAVEIRA, J. H. S. et al. Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1511-1517, 2012.

TEIXEIRA, E. F.; CICERO, S. M.; DOURADO NETO, D. Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Curitiba, v. 28, n. 2, p. 159-167, 2006.

TEIXEIRA, M. M. et al. Avaliação dos danos mecânicos em sementes de milho, durante a movimentação utilizando transportador helicoidal. **Revista Ciências Técnicas Agropecuárias**, La Habana, v. 11, n. 2, 2002.

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS FILHO, J. Seed performance of different corn genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 207-215, 2013.

TONIN, R. F. B. et al. Potencial fisiológico de sementes de milho híbrido tratadas com inseticidas e armazenadas em duas condições de ambiente. **Siencia Agropecuária**, Trujillo, v. 5, p. 7-16, 2014.

VAZ MONDO, V. H.; CÍCERO, S. M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2005.

VAZ MONDO, V. H. et al. Avaliação de danos mecânicos em sementes de feijão por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Curitiba, v. 31, n. 2, p. 27-33, 2009.

VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, 2010.

VIDIGAL, D. S. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.

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

VON PINHO, E. V. R. et al. Efeito do tratamento químico com fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 23-28, 1995.