



**MATHEUS BORNELLI DE CASTRO**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA  
DE SEMENTES DE MILHO POR MEIO DA  
ATIVIDADE RESPIRATÓRIA**

**LAVRAS - MG**

**2011**

**MATHEUS BORNELLI DE CASTRO**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
MILHO POR MEIO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA**

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**

**2011**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Castro, Matheus Bornelli de.

Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por meio da atividade respiratória / Matheus Bornelli de Castro. – Lavras : UFLA, 2011.

67 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Renato Mendes Guimarães.

Bibliografia.

1. Aparelho de Pettenkofer. 2. Teste de vigor. 3. Isoenzimas. 4. Desempenho relativo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.521

**MATHEUS BORNELLI DE CASTRO**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
MILHO POR MEIO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA**

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 24 de fevereiro de 2011.

Dr. João Almir Oliveira UFLA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira EPAMIG

Dr. Renato Mendes Guimarães  
Orientador

**LAVRAS - MG**

**2011**

*A Deus,  
Para glória d'Ele,*

OFEREÇO

*Aos meus pais, Airton e Edda.  
Aos meus irmãos Eduardo e Henrique  
À minha namorada Maráisa.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, razão da minha existência, que me salvou!

Aos meus pais Airton e Edda, pelas orações, pelo amor, carinho, dedicação, atenção e por serem presentes em minha vida.

Aos meus irmãos, Eduardo e Henrique por serem meus melhores amigos.

À minha futura esposa, Maraísa, por me completar. Amo você!

À minha família: avós (José Eduardo e Idamar, Artaxerxes e Perolina), tios (Sidnei e Ayla, David e Geisa, Carlos e Elaine, Aldemir e Kátia), primos (Mariana, Marcello e Fernando, Bianca e Breno, e Camila) pelo carinho em todos os momentos. Obrigado!

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, em especial ao Setor de Sementes, pela oportunidade de realização do mestrado.

A meu orientador, Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães, por toda atenção, dedicação e ensinamento.

Aos professores do Setor de Sementes, por serem exemplos de profissionais, por todos os conhecimentos transmitidos e amizade.

Aos amigos sempre presentes Ivan, Rodrigo, Nayara, Bruno, Heloísa, Wilder e Walbert.

Aos amigos de república, Teteu, Walter, Filipe, Fabinho e Wallace pela convivência perfeita.

À Marli, secretária da Pós em Fitotecnia, pela disponibilidade, atenção e esclarecimentos.

A todos que de alguma forma me ajudaram nessa fase, mesmo que não citados, meus agradecimentos.

OBRIGADO!

"Eu acredito no cristianismo como acredito que o sol nasce todo dia.  
Não apenas porque o vejo, mas porque através dele eu vejo tudo ao meu redor."

C. S. Lewis

"Mas Deus prova o seu próprio amor para  
conosco pelo fato de ter Cristo morrido por nós,  
sendo nós ainda pecadores."

Rm 5.8

## RESUMO

Métodos rápidos e eficientes de avaliação da qualidade fisiológica são cada vez mais necessários para a pronta tomada de decisão durante todas as etapas da produção de sementes. Portanto, objetivou-se, através das pesquisas registradas nesse trabalho, avaliar a eficiência do método físico-químico de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória e diferenciação, pelo vigor, de lotes de sementes de milho. Os ensaios foram realizados no Laboratório Central de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizados dezesseis lotes com qualidade fisiológica variada. Realizaram-se, para referência, os seguintes testes: teor de água, germinação, primeira contagem da germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, tempo médio de emergência, condutividade elétrica, teste de frio, comprimento de parte aérea, de raiz e massa seca da parte aérea e de raiz. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado. Também foram feitas análises das isoenzimas álcool desidrogenase, malato desidrogenase, esterase e  $\alpha$ -amilase. Os testes foram analisados individualmente e coletivamente pelo somatório do desempenho do lote em cada teste. Houve baixa correlação entre o Pettenkofer e os outros testes, tanto pela análise de correlação simples ( $r$ ) quanto pela análise do desempenho relativo. A análise isoenzimática mostrou relação com a qualidade fisiológica, mas com limitações. Com esses resultados, concluiu-se que o tempo de duas horas de permanência no aparelho e 24 horas de pré-embrição não foi eficiente para a cultura do milho. Mas o método de Pettenkofer se mostra promissor, por ter bons fundamentos teóricos e alta capacidade de distinção pelo vigor, necessitando de alguns ajustes.

Palavras-chave: Testes de vigor. Aparelho de Pettenkofer. Isoenzimas.



## ABSTRACT

Rapid and reliable methods for evaluating the physiological quality are increasingly needed for the imminent decision-making during all the stages of seed production. Therefore, the objective is through the research reported in this study to evaluate the efficiency of the Pettenkofer's physico-chemical method of determining the respiratory activity and differentiation of lots of corn seeds, by the vigor. The tests were performed in the Central Laboratory of Seeds at Universidade Federal de Lavras (UFLA). Sixteen lots were used with varied physiological quality. The following tests were applied, for reference: moisture content, germination, germination first count, seedling emergence, rate of emergence, mean emergence time, electrical conductivity, cold test, length of shoot and root and dry mass of shoot and root. The design used for statistical analysis of data was randomized. Analysis of isozymes alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, esterase and  $\alpha$ -amylase, were also made. The tests were examined individually and collectively by the sum of the performance of the lot in each test. It was seen low correlation between the Pettenkofer and other tests, both by simple correlation analysis ( $r$ ) and by analysis of relative performance. Isoenzyme analysis was related to the physiology, but with limitations. With these results, the conclusion is that the time of two hours inside the unit and 24 hours pre-soaking is not efficient for the corn crop. But the Pettenkofer's method is promising for having good theoretical fundamentals and high capacity of distinction by the vigor, requiring some adjustments.

Keywords: Pettenkofer's equipment. Vigor tests. Isoenzymes.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
<b>2.1</b>	<b>Milho no Brasil</b> .....	12
<b>2.2</b>	<b>Avaliação da qualidade de sementes</b> .....	13
<b>2.3</b>	<b>Testes de vigor</b> .....	14
<b>2.3.1</b>	<b>Condutividade elétrica</b> .....	17
<b>2.3.2</b>	<b>Teste de frio</b> .....	17
<b>2.3.3</b>	<b>Comprimento e massa seca de plântulas</b> .....	18
<b>2.3.4</b>	<b>Análise eletroforética de isoenzimas</b> .....	18
<b>2.3.5</b>	<b>Análise da atividade respiratória</b> .....	21
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
<b>3.1</b>	<b>Determinação do teor de água</b> .....	24
<b>3.2</b>	<b>Germinação</b> .....	24
<b>3.3</b>	<b>Emergência</b> .....	24
<b>3.4</b>	<b>Teste de frio</b> .....	25
<b>3.5</b>	<b>Condutividade elétrica</b> .....	25
<b>3.6</b>	<b>Comprimento de plântulas</b> .....	26
<b>3.7</b>	<b>Análises isoenzimáticas</b> .....	26
<b>3.8</b>	<b>Análise da atividade respiratória</b> .....	27
<b>3.9</b>	<b>Análise estatística</b> .....	29
<b>3.10</b>	<b>Desempenho relativo e taxa de correspondência</b> .....	29
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
<b>4.1</b>	<b>Avaliação individual dos testes físicos e fisiológicos</b> .....	31
<b>4.2</b>	<b>Avaliação conjunta dos testes</b> .....	38
<b>4.3</b>	<b>Análise isoenzimática</b> .....	45
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	52
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53
	<b>ANEXOS</b> .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

O milho é uma das poáceas mais cultivadas. Produz grãos de elevado valor nutritivo sendo muito empregado na alimentação humana e, principalmente, animal. Os sistemas de produção de sementes de milho são caracterizados por serem extremamente competitivos, devendo ser fornecido um produto final de alto valor agregado e elevada qualidade.

A qualidade da semente pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de originar plantas com maior produtividade. Os quatro componentes básicos da qualidade das sementes são de importância equivalente, mas o potencial fisiológico geralmente tem sido considerado com atenção especial da pesquisa (MARCOS FILHO, 2005).

O teste de germinação, por ser realizado em condições ideais e artificiais, permite a obtenção da porcentagem máxima de germinação de um lote de sementes. No entanto, em virtude das informações fornecidas por esse teste nem sempre refletirem o comportamento das sementes em condições de campo, principalmente nas adversas, foram desenvolvidos conceitos e testes para a avaliação do vigor.

O emprego de vários testes de vigor tem se constituído em alternativa para estimar o comportamento das sementes em uma ampla faixa de condições ambientais. A identificação de testes que forneçam uma margem segura quanto ao comportamento das sementes em campo vem sendo uma busca incessante e uma necessidade. A escolha desses métodos de avaliação deve observar o atendimento dos quesitos de rapidez, objetividade, simplicidade, economia e reprodutibilidade, além de permitir a interseção dos dados obtidos em diferentes testes.

O maior interesse atualmente, ao avaliar a qualidade fisiológica das sementes, é a obtenção de resultados confiáveis em período de tempo relativamente curto. A rapidez nesta avaliação permite a pronta tomada de decisões durante diferentes etapas da produção de sementes.

Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração como a degradação das membranas celulares, atividade respiratória e diminuição da biossíntese. A maioria dos métodos possui certas limitações de ordem prática, técnica ou econômica, mas todos apresentam potencialidades variáveis, que precisam ser trabalhadas, mesmo porque a pesquisa relativa a testes rápidos, ainda, não foi completamente esgotada (AMARAL, 1994).

Algumas pesquisas relacionando atividade respiratória de sementes com germinação, lixiviação mineral, armazenamento e deterioração já foram feitas, mas as informações ainda são raras e inconsistentes. Um dos primeiros sinais de deterioração de sementes é o rápido aumento na taxa respiratória (GUIMARÃES, 1999).

Dessa forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de separar lotes de sementes de milho em diferentes níveis de qualidade por meio da quantificação da atividade respiratória pelo método físico-químico de Pettenkofer.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Milho no Brasil**

No agronegócio brasileiro, em termos de área explorada, a cultura do milho é a segunda mais cultivada, atrás somente da cultura da soja. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de grãos de milho (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO, 2010). A taxa de utilização de sementes para essa cultura também é alta e significativa, atingindo 84% na safra 2009/2010 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS – ABRASEM, 2011).

Com o surgimento dos híbridos na década de 30-40 e sua viabilização para produção em escala comercial, iniciou-se uma inversão na atuação de instituições públicas e privadas. As sementes de milho foram os primeiros produtos certificados a serem comercializados no mercado nacional. Nas décadas de 60-70, as instituições públicas eram as que detinham a tecnologia da produção, desde o melhoramento genético até a distribuição para os agricultores, enquanto as empresas privadas possuíam funções como multiplicação e comercialização.

A partir da década de 80, com a redução de recursos para a pesquisa nas instituições públicas, juntamente com a valorização da utilização de sementes, as empresas públicas reduziram o seu campo de atuação e as empresas privadas investiram mais em, praticamente, todas as etapas da produção de sementes de milho.

Juntamente a esses aspectos, iniciou-se uma grande campanha de marketing para utilização de sementes melhoradas e, assim, os rendimentos aumentaram gradativamente. Atualmente, a cooperação entre empresas públicas, que concentram seus esforços na conservação de germoplasma e produção de

sementes de milho para fins específicos (resistentes a estresses ambientais), e empresas privadas, que investem em tecnologia de produção e pesquisas de ponta, faz com que toda a cadeia produtiva se beneficie (MARTIN et al., 2007).

O negócio de sementes de milho no Brasil engloba cerca de 20 empresas produtoras de sementes. A cadeia de produção agroindustrial de sementes de milho é complexa e a coordenação eficaz de todas as atividades envolvidas garante a competitividade da empresa e o fornecimento de sementes no momento certo, com qualidade satisfatória e mínimo custo. Nesse mercado extremamente competitivo exigem-se materiais de excelente qualidade que resultem em alta produtividade, pois o investimento em sementes, produtos fitossanitários, fertilizantes e máquinas de elevado valor aumentam o custo de produção (JUNQUEIRA; MORABITO, 2006).

## **2.2 Avaliação da qualidade de sementes**

A qualidade da semente pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que influenciam a capacidade de originar plantas com maior produtividade. A alta qualidade da semente reflete diretamente no resultado final da cultura, em termos de ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas, da maior produtividade e de uniformidade da população (BRACCINI et al., 1999; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; POPINIGIS, 1977).

A avaliação da qualidade fisiológica das sementes é realizada pelo teste de germinação, porém este teste tem limitações por fornecer resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes, devido ao fato de ser conduzido sob condições ideais e artificiais. No entanto, as condições adversas como umidade do solo, clima, competição, entre outras, podem impor uma desuniformidade entre o teste de germinação e os resultados de campo

(HILHORST et al., 2001). Portanto, esse teste, aplicado isoladamente, muitas vezes não é eficiente para prever o comportamento das sementes no campo (BYRUM; COPELAND, 1995).

### **2.3 Testes de vigor**

Para complementar as informações do teste de germinação criou-se o conceito de vigor. Vários testes de vigor foram então desenvolvidos procurando prever o comportamento de lotes de sementes em campo com dados obtidos em laboratório (MCDONALD JUNIOR; WILSON, 1979).

De acordo com o relato de vários pesquisadores, a introdução do termo vigor foi, primeiramente, atribuída a Nobbe, em 1876, que utilizou a palavra “triebkraft”, com significado de “força motriz” ou “energia de crescimento”, ao discorrer sobre o processo de germinação (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA, 1983 apud KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

Em 1950 o pesquisador W. J. Franck, presidente da International Seed Testing Association (ISTA) na época, apresentou uma proposta para que os testes conduzidos em substratos artificiais e condições ótimas fossem denominados testes de germinação e que seus resultados fossem oficializados como parâmetros balizadores dos padrões de sementes para comercialização. E os testes conduzidos em solo deveriam ser chamados testes de vigor (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999). Dessa forma, ficou caracterizado que a habilidade de um lote de sementes estabelecer plântulas em campo deveria ser denominado vigor (FRANK, 1950).

Atualmente o vigor é definido pela AOSA (1983) como as propriedades da semente que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme, com o crescimento de plântulas normais, sob ampla faixa de condições do ambiente.

Na mesma linha de raciocínio a ISTA (2006) define vigor como um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de sementes de alta germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento no ambiente.

Os testes de vigor têm como objetivos básicos detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes com alta germinação e separar lotes em diferentes níveis de vigor de maneira proporcional à emergência em campo, resistência ao transporte e potencial de armazenamento (MARCOS FILHO, 2005; PESKE; LUCCA FILHO; BARROS, 2006).

Os métodos para a avaliação do vigor podem ser classificados em diretos, quando realizados no campo ou em condições de laboratório que simulem fatores adversos de campo; ou indiretos, quando realizados em laboratório, mas avaliando as características físicas, fisiológicas e bioquímicas que expressam a qualidade das sementes (PIÑA-RODRIGUES; FIGLIOLIA; PEIXOTO, 2004). De modo geral, o baixo vigor das sementes é associado a reduções na velocidade e uniformidade da emergência, no tamanho inicial das plântulas, na produção de massa seca, na área foliar e consequentemente nas taxas de crescimento da cultura (HÖFS, 2003; KOLCHINSKI; SCHUCH; PESKE; 2006; MACHADO, 2002; SCHUCH, 1999).

Mas vale ressaltar que os diferentes métodos não foram desenvolvidos para prever o número exato de sementes que germinará em campo. Sabe-se que um resultado de 85% no teste de frio não significa que 85% das plântulas vão sobreviver no campo, mas sim que um lote com 85% de germinação, após o teste de frio, tem maior probabilidade de sobreviver em campo, sob estresse, que um lote onde o resultado tenha sido de 70%. Se as condições de campo se aproximam das ideais, a emergência de plântulas de ambos os lotes será, provavelmente, semelhante. Mas se as condições de estresse durante a



germinação, desenvolvimento de plântulas ou durante o armazenamento forem drásticas, mesmo o lote mais vigoroso pode fracassar.

A escolha do método de avaliação do vigor deve observar o atendimento dos quesitos de rapidez, objetividade, simplicidade, economia e reprodutibilidade, além de permitir a interseção dos dados obtidos em diferentes testes (CALIARI; SILVA, 2001). Entretanto, na tentativa de padronização dos testes de vigor são encontradas certas dificuldades, tendo em vista que o vigor pode ser refletido por intermédio de várias características como velocidade de germinação, uniformidade de emergência de plântulas, resistência ao frio entre outras (PÁDUA, 1998).

São considerados eficientes os testes que permitem separar os lotes em diferentes categorias de vigor, principalmente quando possuem germinação equivalente, desde que essas informações correspondam ao mesmo grau de separação proporcionado pela emergência das plântulas em campo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; ROSSETTO; MARCOS FILHO, 1995). A análise da qualidade fisiológica de sementes deve ser vista como uma atividade dinâmica, que apresente evolução constante, tanto pelo aprimoramento dos meios disponíveis para a avaliação da qualidade das sementes como pela incorporação de novos métodos (NOVEMBRE, 2001).

Talvez, o maior interesse atualmente seja a obtenção de resultados confiáveis em período de tempo relativamente curto para permitir a pronta tomada de decisões durante diferentes etapas da produção de sementes (DIAS; MARCOS FILHO, 1996). Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração (DELOUCHE; BASKIN, 1973) como a degradação das membranas celulares, atividade respiratória e diminuição da biossíntese (DIAS; MARCOS FILHO, 1996). A maioria dos métodos apresenta certas limitações de ordem prática, técnica ou econômica, mas todos apresentam potencialidades variáveis, e a continuação dos estudos e

geração de novos testes torna-se imprescindível para garantir a manutenção da excelência no mercado sementeiro.

### **2.3.1 Condutividade elétrica**

A perda de eletrólitos das sementes para a água de embebição pode ser detectada avaliando-se a condutividade elétrica desses lixiviados (POWELL, 1986). O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que, com o processo de deterioração, ocorre aumento da lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água, devido à perda da integridade dos sistemas de membranas celulares (BRANDÃO JUNIOR et al., 1997; HEPBURN; POWELL; MATTHEWS, 1984). Assim, considera-se o vigor das sementes inversamente proporcional à leitura da condutividade elétrica (VIEIRA, 1994; VIEIRA; KRYZANOWSKI, 1999).

A determinação da condutividade elétrica da solução de embebição da semente, como teste de vigor, é recomendada para sementes de ervilha e sugerida para as de soja (AOSA, 2002).

### **2.3.2 Teste de frio**

O teste de frio, que tem como princípio básico a exposição das sementes a baixa temperatura, alta umidade e agentes patogênicos (quando se utiliza terra procedente de áreas de cultivo da espécie), pode funcionar como instrumento de grande valor para a seleção prévia de lotes de sementes, quanto ao seu desempenho, em uma ampla faixa de condições ambientais.

Esse é considerado um teste de resistência, pois o lote de sementes que melhor resistir às condições adversas é considerado o de maior potencial fisiológico. De forma geral, se os resultados do teste de frio se aproximarem dos

obtidos no teste padrão de germinação, há grande possibilidade de esse lote apresentar capacidade para germinar sob ampla variação das condições de umidade e temperatura do solo (CICERO; VIEIRA, 1994).

### **2.3.3 Comprimento e massa seca de plântulas**

Os testes de massa seca e comprimento de plântulas partem do pressuposto, assim como o de velocidade de germinação, que sementes mais vigorosas originarão plântulas com maiores taxas de desenvolvimento e ganho de massa. Isso porque sementes com alto vigor apresentam maior capacidade de transformação dos tecidos, ou seja, rápida degradação das reservas dos tecidos de armazenamento para utilização destes na composição e formação do eixo embrionário (DAN et al., 1987).

### **2.3.4 Análise eletroforética de isoenzimas**

Outra forma de monitorar alterações na qualidade fisiológica de sementes é por meio de avaliação de variações bioquímicas nos perfis de proteínas e de enzimas específicas, já que segundo Copeland e McDonald (2001) a deterioração de sementes degrada e inativa enzimas, favorecendo a perda de vigor.

A perda da viabilidade das sementes no processo de deterioração é precedida por redução na capacidade de sintetizar proteínas devido ao declínio de componentes como ribossomos, RNA mensageiro e alterações em nível de transcrição e tradução com o envelhecimento das sementes. Sendo assim, os testes mais sensíveis para determinar o estágio de deterioração são aqueles que medem a atividade de certas enzimas associadas com a quebra das reservas ou a biossíntese de tecidos novos (VIEIRA, 2002).

Um grande avanço na área da bioquímica, nos últimos anos, foi possível pelo uso da eletroforese de proteínas (BARROS, 1991; GOTTLIEB, 1977). A eletroforese é um processo de difusão forçada, num campo elétrico, através de um meio suporte, em que uma corrente contínua é empregada para separar as isoenzimas (diferentes formas moleculares de uma mesma enzima), com base nos efeitos de peneiramento molecular e diferenças de cargas eletrostáticas (BREWER; SING, 1970; PASTEUR et al., 1988; TANKSLEY; ORTON, 1983).

O procedimento eletroforético tornou-se um poderoso instrumento na separação e identificação de enzimas, quando foi combinado, por Hunter e Markert (1957), com o uso de corantes, o que permitiu a identificação de enzimas particulares entre inúmeras que possam estar presentes em um extrato de semente (BARROS, 1991).

Entre as enzimas mais pesquisadas como marcadores de qualidade fisiológica estão aquelas que atuam no processo de respiração, a exemplo da malato desidrogenase e álcool desidrogenase, ou aquelas envolvidas no metabolismo de ligação nitrogênio-carbono, (fundamental no processo de germinação de sementes) como a glutamato desidrogenase ou ainda aquelas que possuem funções específicas no metabolismo dos lipídeos como é o caso das esterases, que também estão ligadas a desestruturação do sistema de membranas.

A AOSA (1991) recomenda para milho: álcool desidrogenase, malato desidrogenase, esterase, fosfatase ácida e glutamato-oxalacetato transaminase. Estudando esses sistemas, Salgado (2001) observou que apenas a esterase e a malato desidrogenase apresentaram atividades, tanto nas sementes como nos tecidos dos coleóptilos e das folhas de milho.

A  $\alpha$ -amilase é uma enzima importante na hidrólise do amido, sendo responsável por 90% da atividade amilolítica em semente de milho e sua atividade está relacionada com altas temperaturas (JOSÉ et al., 2004). Sua atuação como marcador de qualidade fisiológica também é bastante estudado.

Malato desidrogenase, álcool desidrogenase são enzimas envolvidas no processo de respiração. A enzima álcool desidrogenase (ADH) reduz acetaldeído para etanol no metabolismo anaeróbico. Quando a atividade da ADH diminui, a semente fica mais susceptível à ação deletéria do acetaldeído (ZHANG et al., 1994). A enzima malato desidrogenase (MDH) catalisa a conversão de malato à oxalacetato, tendo uma importante função dentro do ciclo de Krebs, além de participar do movimento do malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO<sub>2</sub> nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A esterase é uma enzima envolvida em reações de hidrólise de ésteres. Esse grande grupo de enzimas hidrolíticas libera ácidos graxos dos lipídeos, que são usados na oxidação como fonte de energia para a germinação. Enquanto muitos desses lipídeos são provenientes de lipossomos, alguns são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração. Avaliando a atividade da esterase, durante a deterioração de sementes de amendoim, Aung e McDonald (1995), observaram decréscimo na sua atividade total, com o aumento de deterioração tanto em sementes embebidas como não embebidas. Menezes (2005), estudando diferentes níveis de qualidade fisiológica de cultivares de milho observaram que padrões isoenzimáticos de esterase apresentam-se polimórficos.

Camargo et al. (2000) observaram que o envelhecimento artificial, induzido por alta temperatura e umidade relativa de 100%, em sementes de eucalipto, proporcionaram um aumento nas atividades da malato desidrogenase e nas isoenzimas  $\alpha$ -amilase 2 e 3, diminuição acentuada da atividade da  $\alpha$ -amilase 1 e atividade baixa para a fosfatase ácida.

Silva et al. (2008), estudando a ação de bioestimulantes, verificaram que para a enzima  $\alpha$ -amilase houve menor atividade nas sementes quando tratadas com Stimulate® e Booster®, e que não houve diferenças nos padrões

eletroforéticos para a catalase em sementes submetidas aos diferentes tratamentos.

### **2.3.5 Análise da atividade respiratória**

Dentre os vários procedimentos utilizados na determinação do vigor, uma das alternativas seria submeter às sementes à medição da atividade respiratória em condição de laboratório. Esse procedimento não é comum, mas pode se tornar uma importante ferramenta de auxílio à tomada de decisões sobre a qualidade de um lote de sementes (MENDES et al., 2009).

A respiração é a oxidação completa de compostos de carbono a  $\text{CO}_2$  e água, através de uma série de reações, usando oxigênio como acceptor final de elétrons. Sucintamente, é a oxidação de compostos orgânicos para a produção de energia e compostos secundários. A energia é liberada e conservada na forma de ATP, o qual pode ser prontamente utilizado para a manutenção e o desenvolvimento da planta ou da semente (TAIZ; ZEIGER, 2009). Os substratos respiratórios podem ser carboidratos como amido, sacarose, frutose, glicose e outros açúcares; lipídios; ácidos orgânicos e proteínas (MARENCO; LOPES, 2007).

Entre os fatores do ambiente, a água é o fator que mais influencia o processo de germinação. Com a absorção de água, por embebição, ocorre a reidratação dos tecidos e, conseqüentemente, a intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que resultam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário.

Piña-Rodrigues, Figliolia e Peixoto (2004) relatam que a primeira atividade metabólica das sementes, logo após a reidratação, é a respiração. De quase nula, ela passa a valores elevados em relativamente pouco tempo,

dependendo da espécie. A atividade e integridade das mitocôndrias de embriões viáveis aumentam a partir do início da embebição, tornando mais eficiente a produção de Adenosina trifosfato (ATP – forma de armazenamento de energia), refletindo a elevação do consumo de oxigênio e conseqüentemente maior liberação de CO<sub>2</sub> (BEWLEY; BLACK, 1994).

A respiração, a atividade de enzimas e de organelas e a síntese de proteínas são eventos fundamentais para o desenvolvimento normal do processo de germinação e preparo para o crescimento subsequente do embrião. Importantes macromoléculas, como DNA e RNA, proteínas, lipídios, clorofilas, carotenoides e fitormônios, são formadas por esqueletos carbonados desviados da via respiratória. Para a síntese desses novos materiais indispensáveis ao crescimento, são necessárias também substâncias de alto poder redutor (NADH, FADH<sub>2</sub>) e elevado conteúdo energético (ATP). Portanto, nem todo carbono contido no substrato respiratório é liberado na forma de CO<sub>2</sub>, e nem todos os elétrons contidos nos nucleotídeos reduzidos (NADH, FADH<sub>2</sub>) se combinarão com O<sub>2</sub> para produzir H<sub>2</sub>O (MARENCO; LOPES, 2007).

A velocidade respiratória da semente é influenciada pelo seu grau de umidade, pela temperatura, pela permeabilidade das membranas, pela tensão de oxigênio e gás carbônico e pela luz. O aumento da atividade respiratória da semente pode ser avaliado pela quantidade de gás carbônico liberado, pela quantidade de oxigênio consumido ou pela relação entre CO<sub>2</sub> liberado e O<sub>2</sub> consumido denominada quociente respiratório (QR) (POPINIGIS, 1977).

Métodos para a medição da respiração estão relacionados com a perda de massa seca e/ou com trocas gasosas. No entanto, medir a variação de massa seca das sementes requer grande quantidade de material e implica na sua destruição (MARENCO; LOPES, 2007). Já os métodos baseados em trocas gasosas requerem menos material e não são destrutivos.

Os métodos mais utilizados, baseados em trocas gasosas, são o respirômetro de Warburg e o eletrodo de Clark, que consistem na medição manométrica do O<sub>2</sub> consumido, o analisador de gás infravermelho (IRGA) e os métodos físico-químicos que se baseiam na retenção de CO<sub>2</sub> em uma base e em sua determinação por titulometria, colorimetria ou condutivimetria (MAESTRI; ALVIM; SILVA, 1998).

Dentre as diferentes formas de verificar a qualidade fisiológica em sementes, o processo de respiração merece atenção, pela alta relação entre este fenômeno e a qualidade da semente. A melhor forma de avaliar o processo respiratório é através da quantificação de CO<sub>2</sub> liberado (CRISPIM et al., 1994).

A determinação da atividade respiratória de sementes de milho pelo método físico-químico de Pettenkofer, e a correlação dos resultados com outros testes de determinação da qualidade fisiológica de sementes, tanto testes de vigor quanto marcadores moleculares pode se constituir em uma alternativa promissora para a adoção de mais um teste rápido de vigor, de baixo custo e de fácil execução.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos nos Laboratórios de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras, MG. Foram utilizados 16 lotes de sementes de milho com vários níveis de qualidade fisiológica provenientes de diversas empresas. (Anexo – Tabela 1F).

As sementes foram submetidas aos seguintes testes e determinações:

#### 3.1 Determinação do teor de água

Realizado pelo método da estufa, aos 105°C por 24 horas, com três repetições de 50 sementes por tratamento, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em porcentagem com base no peso úmido.

#### 3.2 Germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, semeadas em rolo de papel germitest, umedecido em água com 2,5 vezes o peso do substrato. Os rolos foram mantidos em germinador aos 25°C, realizando-se a **primeira contagem** no quarto dia e a contagem final no sétimo dia após a semeadura. Foi computada a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

#### 3.3 Emergência

Realizou-se a semeadura em canteiro com substrato terra: areia na proporção 1:2. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais ao 14º dia.

Paralelamente ao teste de emergência foi calculado o **índice de velocidade de emergência**, computando-se diariamente o número de plântulas emergidas e utilizando a fórmula proposta por Maguire (1962) e o **tempo médio de emergência**, conforme Labouriau (1983).

### **3.4 Teste de frio**

A semeadura foi realizada em bandejas plásticas contendo substrato terra: areia, na proporção de 1:2, sendo o solo proveniente da área experimental da UFLA cultivada com milho. A umidade do substrato foi ajustada para 70% da capacidade de retenção. Cada tratamento foi composto por quatro repetições de 50 sementes. Após a semeadura, as bandejas foram colocadas em câmara fria aos 10°C, por 7 dias. Posteriormente, foram transferidas para câmara de crescimento vegetal, à temperatura de 25 °C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas), onde permaneceram por mais 7 dias, quando foi avaliado o número de plântulas normais emergidas.

### **3.5 Condutividade elétrica**

Utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento. As sementes foram pesadas, pré-lavadas com água destilada para minimizar o efeito do tratamento químico e acondicionadas em copos descartáveis com 75 ml de água deionizada, mantidas em BOD a uma temperatura de 25 °C por um período de 24 horas. Em seguida foram realizadas as leituras da condutividade em um condutivímetro DIGIMED CD-21 e os resultados expressos em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de sementes (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

### 3.6 Comprimento de plântulas

Utilizou-se quatro repetições de 14 sementes semeadas com a ponta da radícula voltada para baixo, no terço superior do papel pré-umedecido em água com 3 vezes seu peso seco. Os rolos de papel foram envoltos em saco plástico preto para evitar a perda de umidade. Foram mantidas em germinador aos 25°C por sete dias, medindo-se, após isso, o comprimento da parte aérea e da raiz de cada plântula normal. Essas plântulas foram seccionadas e separadas em parte aérea e raiz e colocadas separadamente em sacos de papel. Após isso, foram acondicionadas em estufa com circulação de ar forçado aos 60°C por 48 horas, pesadas e o valor obtido dividido pelo número de plântulas inicial, obtendo os dados de massa seca da parte aérea e da raiz em mg.plântula<sup>-1</sup> (KRZYZANOWSKI, 1991).

### 3.7 Análises isoenzimáticas

Foram coletadas duas amostras de 50 sementes de cada tratamento e armazenadas à temperatura de -86 °C. Posteriormente, estas foram maceradas manualmente na presença do antioxidante PVP (Polivinilpirrolidona) e nitrogênio líquido em almofariz.

Subamostras de 100mg do material macerado, foram acrescidas de 250 µl do tampão de extração (Tris HCl 0,2M pH 8,0) e 0,1% de β-mercaptoetanol. O material foi colocado em geladeira por 12 horas e depois centrifugado a 14000 rpm por 30 minutos aos 4 °C. A eletroforese em géis de poliacrilamida foi desenvolvida em sistema descontínuo (7,5% gel de separação e 4,5% gel de concentração). O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8.9. Para proceder a corrida eletroforética, foram aplicados na canaleta do gel 50 µL de cada sobrenadante e a corrida realizada aos 4 °C, a 150 V, por 4 horas. Ao

término da corrida, os géis foram revelados para as enzimas esterase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase conforme Alfenas (2006).

Para a extração da enzima  $\alpha$ -amilase, as sementes foram colocadas para germinar em rolo de papel por um período de 70 horas. Decorrido esse período, as plúmulas e raízes das plântulas foram descartadas e o restante foi triturado em mortar sobre gelo, na presença de nitrogênio líquido. Para a extração, 200 mg do pó das sementes foram ressuspensos em 600  $\mu$ l do tampão de extração (Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0 + 0,4% de PVP). A revelação foi feita aplicando 40 mL do extrato proteico nos géis de policrilamida a 7,5% (gel separador - contendo amido) e 4,5% (gel concentrador). Avaliaram-se as bandas claras em fundo azulado (revelação negativa), devido à reação com a amilose.

### **3.8 Análise da atividade respiratória**

Foi avaliada por meio do aparelho de Pettenkofer (Figura 1). O aparelho é constituído por quatro frascos, os dois primeiros contendo hidróxido de sódio (NaOH) em 25%, o terceiro contendo 200 g das sementes em análise (frasco de armazenamento) e o quarto e último contendo hidróxido de bário ( $\text{Ba(OH)}_2$ ) na concentração de 0,1N. Os frascos são vedados com rolhas de silicone, interligados por uma mangueira e o fluxo de ar é controlado por uma torneira. O hidróxido de sódio retém o  $\text{CO}_2$  ambiente para que não ocorra superestimação na medição. O hidróxido de bário reage com o  $\text{CO}_2$  proveniente da respiração das sementes, formando assim carbonato de bário ( $\text{BaCO}_3$ ).

As sementes foram pré-embebidas por 24 horas em papel germitest umedecido com água destilada. Decorrido esse período foram colocadas no aparelho para iniciar a leitura. Após duas horas, retirou-se duas alíquotas de 20 ml do sobrenadante para titulação.

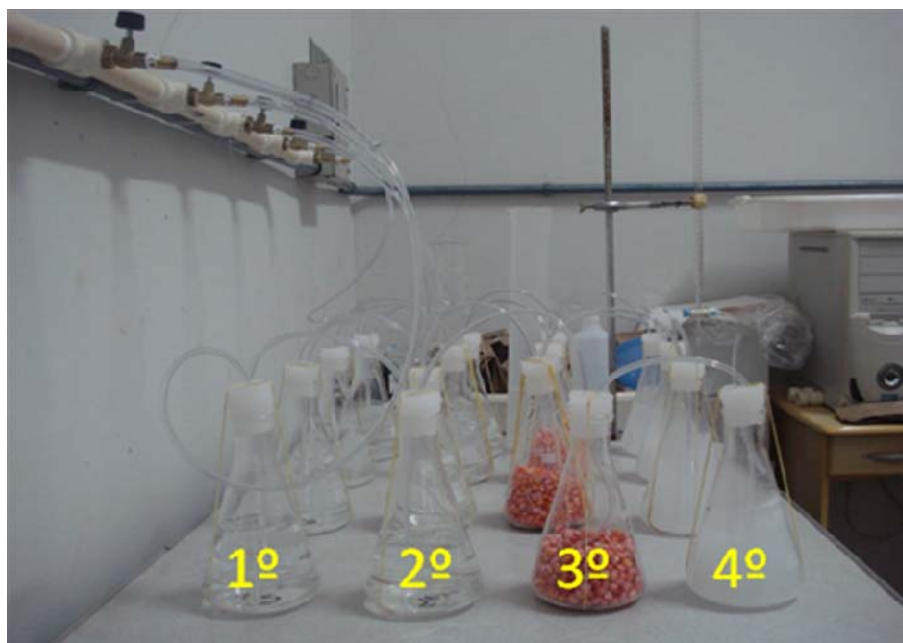


Figura 1 Aparelho de Pettenkofer

Cada alíquota recebe duas gotas de reagente de cor fenolftaleína e é submetida à titulação com ácido clorídrico (HCl) 0,1N em bureta de 50 ml. O volume de HCl gasto até o ponto de viragem é anotado. Esse volume está diretamente relacionado com a quantidade de  $\text{BaCO}_3$  presente na solução, que também é proporcional à quantidade de  $\text{CO}_2$  proveniente da atividade respiratória das sementes. E através de cálculos estequiométricos é possível obter a quantidade de  $\text{CO}_2$  liberado pela respiração das sementes.

A fórmula, já simplificada, é a seguinte:

$$(Lb - La) * \frac{1,1 \cdot 10^5}{h * g}$$

onde:

Lb: leitura da prova em branco (ml)

La: leitura da amostra (ml)

h: tempo de permanência no aparelho (horas)

g: massa de sementes usada (gramas)

O resultado é expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente por hora ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Vale ressaltar que esta fórmula só é válida quando utilizados os reagentes descritos acima, com suas concentrações. O aparelho foi instalado dentro de uma câmara com controle de temperatura ( $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ ), não havendo interferência deste fator na medição.

### **3.9 Análise estatística**

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 repetições em todos os testes. Foi feita a análise de correlação de cada teste de vigor já comumente utilizado para o milho com o teste de Pettenkofer. Os dados foram submetidos à análise de variância, com auxílio do software Sisvar® (FERREIRA, 2000) e comparados pelo teste de Tukey aos 5% de probabilidade.

### **3.10 Desempenho relativo e taxa de correspondência**

Os lotes foram ranqueados de acordo com a nota que obtiveram em cada teste (CALIARI; SILVA, 2001). Essa nota foi estabelecida de acordo com a classificação estatística no teste de Tukey da seguinte forma: - atribuiu-se 1 ponto positivo para cada lote estatisticamente inferior ao lote em questão e 1 ponto negativo para cada lote estatisticamente superior. A nota final foi o somatório dessas pontuações.

O desempenho relativo foi obtido da seguinte forma: - após a pontuação de cada lote, foi obtido o valor intermediário, calculando-se a média entre os valores extremos, ou seja, entre a maior e a menor nota. Os lotes com notas acima do valor intermediário foram classificados como superior à média (SM), lotes com desempenho igual ao valor intermediário foram classificados como médios (M) e lotes com pontuação inferior ao valor intermediário foram classificados no grupo inferior a média (IM).

A taxa de correspondência foi calculada pela comparação entre testes individualmente ou entre grupos de testes com um teste referência. Atribui-se o valor 1 para os lotes classificados no mesmo grupo e 0 para os lotes classificados em grupos diferentes. A taxa de correspondência foi o valor percentual entre o número de lotes que permaneceram no mesmo grupo e número total de lotes.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Avaliação individual dos testes físicos e fisiológicos**

Testes de vigor utilizam situações específicas de estresse, para prever o comportamento relativo dos lotes em campo. Por isso, deve-se utilizar de uma gama variável de testes para que os resultados sejam coerentes e consistentes (CARVALHO; NAKAGAWA, 1988; WOODSTOCK, 1973). Dessa forma, vários testes foram aplicados às sementes de milho dos 16 lotes.

O grau de umidade das sementes provenientes de dezesseis lotes de milho está explicitado na Tabela 1. Houve diferença estatística entre os lotes. A amplitude de variação foi alta, com valores entre 6 e 17%. A umidade das sementes pode influenciar as avaliações e a obtenção dos resultados (LOEFFLER; TEKRONY; EGLI, 1988), mas a padronização prévia de todos os lotes é inviável para a obtenção de resultados rápidos, elemento imprescindível para a pronta tomada de decisão. Considerou-se, portanto, a umidade como componente determinante do vigor do lote.

O comportamento entre lotes foi significativamente diferente quando avaliados pelo teste de germinação (Tabela 1). A porcentagem de germinação dos lotes 04 e 12 foi menor que a do lote 15 e 16 e a germinação do lote 06 foi estatisticamente inferior.

Os resultados dos testes de vigor, quando comparados entre si, foram inconsistentes, ou seja, os lotes não foram classificados da mesma forma por todos os testes. Esta observação é semelhante à relatada por Caliarri e Silva (2001) que estudaram 45 lotes de sementes de milho, e obtiveram resultados discrepantes, dependendo do teste de vigor.

A primeira contagem de germinação (Tabela 1) diferenciou os lotes em cinco níveis, e seus resultados correlacionaram de forma significativa e positiva



com o teste de germinação (Anexo - Tabela 1A), com correlação linear simples (r) de 0,8006. A média mais baixa foi a do lote 06 com apenas 31% de plântulas normais ao quarto dia.

Esse teste baseia-se no princípio de que os lotes com maiores porcentagens de plântulas normais no 4º dia de germinação são os mais vigorosos. É um teste rápido e importante já que a uniformidade e a velocidade de emergência de plântulas são os mais importantes componentes dentro do conceito atual de vigor de sementes (WILLYDER, 2010).

Tabela 1 Grau de umidade médio, Germinação (%G) e Primeira Contagem de Germinação (PC), dos 16 lotes de sementes de milho

Testes					
Umidade		%G		PC	
Lote	%	Lote	%	Lote	%
3	6,09 a	15	97a	13	89a
5	9,70 b	16	97a	3	82ab
13	10,04 bc	9	95ab	7	82ab
2	10,81 cd	8	94ab	15	82ab
9	11,95 de	13	93ab	5	81ab
14	12,20 e	7	93ab	8	81ab
1	12,60 e	5	93ab	2	80abc
7	12,61 e	1	92ab	11	78abc
15	12,97 e	2	91ab	1	76abcd
11	12,98 e	3	91ab	10	75abcd
6	13,20 e	14	91ab	16	75abcd
12	13,33 e	11	88ab	12	68 bcd
4	14,55 f	10	88ab	9	66 bcd
8	15,52 f	4	83 b	14	63 cd
10	17,01 g	12	83 b	4	60 d
16	17,02 g	6	49 c	6	31 e

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey aos 5% de probabilidade

O teste de emergência em canteiro (Tabela 2) separou os lotes em sete níveis estatisticamente distintos, sendo novamente o lote 06 o menos vigoroso. Entretanto, quando a avaliação foi realizada pelo índice de velocidade de emergência e pelo tempo médio de emergência (Tabela 2) o lote 06 foi o mais vigoroso, mostrando uma limitação desses dois últimos testes em classificar lotes com baixa porcentagem de emergência, mas que concentram a emergência nos primeiros dias do teste. Esse fato pôde ser observado nos lotes 02, 06 e 11, por exemplo.

Tabela 2 Porcentagem de emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de germinação (TME), dos 16 lotes de sementes de milho

		Testes			
%E		IVE		TME	
Lote	%	Lote	-	Lote	dias
8	98,5a	6	5,72a	6	4,53a
14	96,5ab	11	5,66a	2	7,66 b
10	96,0ab	15	5,26ab	11	7,96 bc
13	96,0ab	2	5,22ab	4	8,38 bcd
7	96,0ab	14	5,20ab	5	8,99 bcde
16	95,5abc	5	5,09abc	1	9,18 cde
9	95,0abc	4	4,95 bcd	15	9,35 cde
12	94,0abcd	1	4,89 bcde	14	9,77 def
15	93,0abcd	12	4,76 bcde	3	9,91 ef
3	90,0abcd	3	4,69 bcde	12	10,27 efg
5	86,5 bcde	9	4,56 cde	9	10,86 fg
1	84,5 cdef	10	4,47 cde	16	10,99 fg
11	84,0 def	16	4,44 de	10	11,04 fg
4	77,5 ef	8	4,41 de	7	11,19 fg
2	73,5 f	7	4,41 de	13	11,42 g
6	48,0 g	13	4,29 e	8	11,45 g

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey aos 5% de probabilidade

Outro problema encontrado no teste de IVE é que ele dá maior peso à germinação inicial do que a final. Pode acontecer de dois lotes terem resultados de germinação diferentes e o mesmo resultado no vigor por IVE.

No teste de frio (Tabela 3), os lotes foram classificados em sete níveis de vigor, sendo o lote 06 o menos vigoroso, com apenas 27,3% de plântulas normais no final do teste, em média.

Tabela 3 Teste de frio (TF), condutividade elétrica (CE) e comprimento da parte aérea (CPA), dos 16 lotes de sementes de milho

Testes					
TF		CE		CPA	
Lote	%	Lote	$\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$	Lote	cm
7	98,8a	16	07,557a	8	10,77a
14	96,8ab	15	09,535ab	9	9,25ab
16	96,8ab	7	10,282ab	16	8,62abc
8	94,0ab	8	12,667 bc	3	8,07 bcd
13	93,3abc	14	12,772 bc	5	8,00 bcd
9	93,3abc	10	12,782 bc	13	7,92 bcd
10	91,3abcd	11	15,167 cd	10	7,57 bcd
15	89,3abcd	12	15,965 cde	7	7,25 bcd
12	88,8 bcd	6	16,347 de	15	7,25 bcd
3	88,0 bcd	9	17,970 def	1	6,70 cde
5	84,0 cde	13	18,790 efg	14	6,55 cde
1	83,3 de	5	19,955 fgh	11	6,45 cde
11	78,0 ef	4	22,135 ghi	2	5,92 def
4	72,8 ef	2	22,397 hi	4	5,80 def
2	70,0 ef	1	24,747 ij	12	4,67 ef
6	27,3 g	3	26,647 j	6	3,80 f

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey aos 5% de probabilidade

Esse teste é um dos mais utilizados, no Brasil e no mundo, para verificação do vigor em sementes de milho. Propõe prever, principalmente, o desempenho de lotes simulando condições frias chuvosas, as quais, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, poderão provocar sérios problemas para a germinação e emergência de plântulas (KRZYZANOWSKI, VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

O teste de condutividade elétrica (Tabela 3) foi o teste que distinguiu os lotes em mais classes. Diferenciou estatisticamente em nove níveis de vigor, sendo o lote 03 o de menor vigor. Pode ser devido à umidade das sementes desse lote que estava em torno de 6% (Tabela 1).

Em geral, tem-se verificado que teores de água muito baixos menor ou igual aos 10%, ou muito altos, maior ou igual aos 17%, influenciam significativamente nos resultados da condutividade elétrica e que, portanto, devem ser ajustados para uma faixa de teor de água entre 10% e 17% antes de se efetuar o teste (AOSA, 1983; CARVALHO, 1994; HAMPTON; JOHNSTONE; EUA-UMPON, 1992).

Esse teste também foi capaz de diferenciar a qualidade fisiológica de dez genótipos de soja (SCHUAB, 2003), três lotes de sementes de milheto (GASPAR; NAKAGAWA, 2002), mas não foi capaz de separar, pelo método individual, lotes de mamona (SOUZA, 2007) nem de soja (DIAS; MARCOS FILHO, 1996).

Os testes de avaliação do crescimento de plântulas e da massa seca (Tabela 3 e 4), por meio da medição do comprimento da parte aérea (CPA), do comprimento de raiz (CR), peso da massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR), diferenciaram os lotes em quatro classes de vigor, com exceção do CPA que distinguiu os lotes em seis classes.

Seus valores correlacionaram bem entre si (Anexo - Tabela 1A), com valores de  $r$  entre 0,64 e 0,85, e quatro lotes ficaram sempre entre os lotes de baixo vigor, a saber, os lotes 02, 06, 11 e 12 (Tabelas 3 e 4).

É importante ressaltar que o comprimento de plântulas, ou de parte delas, dado em função do número de sementes colocadas em teste, é mais sensível para classificar lotes com diferenças sutis de qualidade fisiológica, em comparação com a forma tradicional de considerar o comprimento com base no número de plântulas normais obtidas no final do teste, como afirmam Guedes et al. (2009) e Vanzolini et al. (2007).

Tabela 4 Comprimento de raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), dos 16 lotes de sementes de milho

Testes					
CR		MSPA		MSR	
Lote	cm	Lote	mg	Lote	mg
9	26,65a	8	34,77a	16	47,85a
8	25,77ab	16	28,22ab	8	45,17ab
10	24,27abc	9	25,30 bc	10	42,20abc
16	24,22abc	10	25,07 bc	7	42,15abc
3	23,97abc	7	24,72 bc	9	41,97abc
7	22,87abc	13	20,72 bcd	15	37,72abcd
13	22,75abc	5	20,05 bcd	13	33,57abcd
5	22,52abc	15	19,92 bcd	5	33,10abcd
14	22,40abc	1	19,12 cd	14	29,85 bcd
15	19,37abcd	11	18,00 cd	1	29,55 cd
4	18,40abcd	14	17,62 cd	4	29,10 cd
2	17,90 bcd	2	16,25 cd	2	28,30 cd
11	17,52 bcd	4	15,05 d	11	25,20 d
12	16,65 cd	3	14,82 d	3	24,10 d
1	16,25 cd	12	14,02 d	12	22,40 d
6	12,65 d	6	11,70 d	6	22,37 d

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey aos 5% de probabilidade

No teste de Pettenkofer (Tabela 5), em que se avalia a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado pela respiração das sementes por grama de semente por hora, conseguiu separar estatisticamente os lotes em cinco níveis de vigor.

Sabe-se que mitocôndrios em sementes secas e no início do processo de embebição, não têm um sistema organizado de membranas, e a reorganização ocorre à medida que a hidratação prossegue e os mitocôndrios se tornam mais eficientes na fosforilação oxidativa. O desempenho do lote pode ser visualizado como consequência do período de tempo necessário para que os mitocôndrios fiquem mais eficientes, passem a executar funções respiratórias e o sistema de membranas se torne melhor organizado (MARCOS FILHO, 2005).

Tabela 5 Análise da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, dos 16 lotes de sementes de milho

Pettenkofer	
Lote	µg CO <sub>2</sub> g semente <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
3	481,25a
13	325,41 b
4	288,75 bc
1	275,00 bc
15	275,00 bc
14	256,67 bc
2	242,92 bcd
9	229,17 bcd
10	229,17 bcd
16	206,25 bcd
11	197,08 cd
7	197,08 cd
8	169,58 cde
5	169,58 cde
12	128,33 de
6	59,58 e

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey aos 5% de probabilidade

A atividade e integridade dos mitocôndrios de embriões viáveis aumentam a partir do início da embebição, o que torna mais eficiente a produção de ATP, refletindo a elevação do consumo de oxigênio e conseqüente elevação na produção de gás carbônico (BEWLEY; BLACK, 1994). Sendo assim, o lote mais vigoroso tende a respirar mais do que um lote com menor vigor, em um mesmo período de tempo.

O lote 03 se destacou por apresentar a maior respiração, com 481,25  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . O lote 06 apresentou menor média, 59,58  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , e foi estatisticamente inferior aos demais lotes, só se igualando com os lotes 05, 08 e 12, evidenciando o baixo desempenho desse lote também nos demais testes de vigor.

A elevada respiração do lote 03 pode ser explicada devido à rápida retomada da atividade dessas sementes, verificada pelo teste de primeira contagem de germinação (PC) (Tabela 1). A correlação entre a PC e o teste de Pettenkofer (Anexo - Tabela 1A) foi a maior observada ( $r = 0,4477$ ). Esse lote apresentou, também, alta porcentagem de germinação (Tabela 1), ou seja, seu desempenho foi bom em condições favoráveis e como o método de Pettenkofer também oferece essas condições (temperatura e umidade ideais), o resultado foi coerente.

#### **4.2 Avaliação conjunta dos testes**

Nos testes de vigor (Tabelas 1, 2, 3 e 4): primeira contagem de germinação (PC), emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME), teste de frio (TF), condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), os lotes apresentaram algumas discrepâncias, tendo um comportamento diferenciado.

Cada teste de vigor analisa o desempenho das sementes submetidas a um estresse, e nem sempre os lotes apresentam a mesma ordenação qualitativa em todos os testes (MARCOS FILHO, 1998), ou seja, as informações obtidas podem ser distintas entre si (GRABE, 1976; MARCOS FILHO et al., 1984). Sabe-se também que a interpretação de dados de testes de vigor fica mais complexa ao se aumentar o número de testes e de lotes a serem comparados (MARTINS; SILVA, 2005).

Essa afirmativa pode ser observada claramente pela correlação entre os testes (Anexo – Tabela 1A). Poucas correlações foram maiores do que 0,8, aceito como uma boa correlação. Destacam-se, apenas as correlações entre TME e %E com 0,9428, TME e IVE com correlação negativa de 0,8362, TF com %E e TME, com  $r$  de 0,9142 e 0,8731, respectivamente.

Outras correlações altas foram encontradas entre CR e CPA, sendo 0,8515, CPA e MSPA, com valores claramente correlacionados e com  $r = 0,8423$  e a correlação de MSPA e MSR com  $r = 0,8533$ . As demais correlações foram baixas ou não significativas.

Assim, para se conseguir avaliar corretamente a qualidade fisiológica, é necessário adotar critérios de pontuação, de acordo com a classificação estatística, para ranquear e ordenar os lotes de acordo com o desempenho adquirido em todos os testes. Caliarì (1999), em sua tese de doutorado, desenvolveu uma metodologia interessante nesse sentido.

O mesmo procedimento foi feito com os 16 lotes de sementes de milho, em todos os testes de vigor, classificando os lotes nas três categorias: superior ao médio (SM), inferior ao médio (IM) e médio (M) (Tabelas 6, 7, 8 e 9). Em seguida, foi calculada a taxa de coincidência entre os grupos observados em todos os lotes e os grupos provenientes do teste de Pattenkofer (Tabela 10).

A respeito deste assunto, há recomendações, oriundas de estudos voltados à determinação do desempenho de sementes submetidas a testes



distintos (ALIZAGA et al., 1990; MARCOS FILHO et al., 1984; PIANA; SILVA, 1998; SÁ, 1987), propondo a análise de correlação entre os dados obtidos; porém, apesar de permitir a análise da relação de dependência entre as variáveis estudadas, o uso deste procedimento pode conduzir à obtenção de informações incompletas (BERKEY, 1993; MARCOS FILHO et al., 1984) tendo-se em vista que a correlação significativa indica proporcionalidade entre estimativas sem, contudo, provar a similaridade entre as ordenações dos valores obtidos (MOLINA, IRIGON; ZONTA, 1987).

Tabela 6 Pontuações e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes nos testes de primeira contagem de germinação (PC), de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de emergência (TME) a partir da classificação estatística

Testes											
PC			%E			IVE			TME		
Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo
13	5	SM	8	6	SM	6	10	SM	6	15	SM
3	3	SM	14	5	SM	11	10	SM	2	10	SM
7	3	SM	10	5	SM	15	6	SM	11	8	SM
15	3	SM	13	5	SM	2	6	SM	4	7	SM
5	3	SM	7	5	SM	14	6	SM	5	5	SM
8	3	SM	16	4	SM	5	4	SM	1	4	SM
2	2	SM	9	3	SM	4	-1	IM	15	4	SM
11	2	SM	12	3	SM	1	-2	IM	14	-1	IM
1	1	SM	15	3	SM	12	-2	IM	3	-2	IM
10	1	SM	3	3	SM	3	-2	IM	12	-4	IM
16	1	SM	5	1	SM	9	-5	IM	9	-7	IM
12	0	SM	1	-4	SM	10	-5	IM	16	-7	IM
9	0	SM	11	-5	IM	16	-6	IM	10	-7	IM
14	-5	M	4	-9	IM	8	-6	IM	7	-7	IM
4	-7	IM	2	-10	IM	7	-6	IM	13	-9	IM
6	-15	IM	6	-15	IM	13	-7	IM	8	-9	IM

Assim, o procedimento adotado, ao estabelecer valores de desempenho fisiológico somando dados vindos de diferentes testes, constitui-se em uma alternativa à interpretação de avaliações provenientes de um conjunto de testes de vigor.

A quantidade de lotes em cada grupo de desempenho varia de acordo com o teste analisado. Os extremos são os testes de primeira contagem de germinação (Tabela 6) com apenas dois lotes abaixo da média e um lote na média, enquanto o teste de massa seca da parte aérea (Tabela 8) tem somente dois lotes acima da média. Isso demonstra, mais uma vez, a dificuldade de análise dos testes individualizados.

Tabela 7 Pontuações e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes nos testes de frio (TF), de condutividade elétrica (CE) e comprimento da parte aérea (CPA) a partir da classificação estatística

Testes								
TF			CE			CPA		
Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo
7	8	SM	16	13	SM	8	13	SM
14	6	SM	15	10	SM	9	7	SM
16	6	SM	7	10	SM	16	4	SM
8	6	SM	8	7	SM	3	1	SM
13	5	SM	14	7	SM	5	1	SM
9	5	SM	10	7	SM	13	1	SM
10	4	SM	11	3	SM	10	1	SM
15	4	SM	12	2	SM	7	1	SM
12	3	SM	6	-1	IM	15	1	SM
3	3	SM	9	-2	IM	1	-1	IM
5	-1	SM	13	-4	IM	14	-1	IM
1	-3	SM	5	-7	IM	11	-1	IM
11	-9	IM	4	-9	IM	2	-4	IM
4	-11	IM	2	-10	IM	4	-4	IM
2	-11	IM	1	-12	IM	12	-9	IM
6	-15	IM	3	-14	IM	6	-12	IM

A mesma dificuldade foi verificada por Alizaga et al. (1990) em lotes de feijão, que após vários testes de determinação da qualidade fisiológica, não conseguiram diferenciar os lotes em níveis de qualidade através de comparações simples devido a resultados contrastantes.

Tabela 8 Pontuações e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes nos testes de comprimento de raiz (CR), de massa seca da parte aérea (MSPA) e de massa de raiz (MSR) a partir da classificação estatística

Testes								
CR			MSPA			MSR		
Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo	Lote	Pont.	Grupo
9	5	SM	8	14	SM	16	8	SM
8	3	SM	16	8	SM	8	7	SM
10	1	SM	9	3	IM	10	4	SM
16	1	SM	10	3	IM	7	4	SM
3	1	SM	7	3	IM	9	4	SM
7	1	SM	13	-1	IM	15	0	IM
13	1	SM	5	-1	IM	13	0	IM
5	1	SM	15	-1	IM	5	0	IM
14	1	SM	1	-2	IM	14	-1	IM
15	0	SM	11	-2	IM	1	-2	IM
4	0	SM	14	-2	IM	4	-2	IM
2	-1	SM	2	-2	IM	2	-2	IM
11	-1	SM	4	-5	IM	11	-5	IM
12	-2	M	3	-5	IM	3	-5	IM
1	-2	M	12	-5	IM	12	-5	IM
6	-9	IM	6	-5	IM	6	-5	IM

Tabela 9 Pontuação e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes no teste de Pettenkofer a partir da classificação estatística

Pettenkofer		
Lote	Pont.	Grupo
3	15	SM
13	5	SM
4	1	IM
1	1	IM
15	1	IM
14	1	IM
2	0	IM
9	0	IM
10	0	IM
16	0	IM
11	-1	IM
7	-1	IM
8	-2	IM
5	-2	IM
12	-6	IM
6	-12	IM

Na Tabela 10 está explicitado o resultado da Taxa de Correspondência (TC) entre o somatório da pontuação de cada lote adquirida ao longo dos testes de vigor e a classificação pelo teste de Pettenkofer.

Tabela 10 Pontuação e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes no total dos testes e no teste de Pettenkofer a partir da classificação estatística e cálculo da Taxa de Correspondência (TC)

Lote	Total		Pettenkofer		Presença no mesmo grupo
	Pont.	Grupo	Pont.	Grupo	
1	-28	IM	1	IM	1
2	-39	IM	0	IM	1
3	-10	SM	15	SM	1
4	-56	IM	1	IM	1
5	-1	SM	-2	IM	0
6	-97	IM	-12	IM	1
7	39	SM	-1	IM	0
8	65	SM	-2	IM	0
9	30	SM	0	IM	0
10	31	SM	0	IM	0
11	-13	SM	-1	IM	0
12	-12	SM	-6	IM	0
13	17	SM	5	SM	1
14	20	SM	1	IM	0
15	25	SM	1	IM	0
16	49	SM	0	IM	0
				Total =	6
				TC (%) =	37,5

Os lotes 01, 02, 04 e 06 apresentaram desempenho abaixo da média no somatório dos testes de vigor e também na análise da atividade respiratória. Já os lotes 03 e 13 ficaram acima da média tanto no teste de Pettenkofer quanto na análise conjunta dos testes. Os demais lotes obtiveram comportamento diferente e mudaram de grupo de desempenho.

A Taxa de Correspondência (TC) foi de 37,5%, ou seja, apenas seis dos dezesseis lotes permaneceram no mesmo grupo de classificação. Essa percentagem é mais bem entendida quando comparada com a TC de outros

testes de vigor (Anexo – Tabela 1C, 1D, 1E). Verifica-se que a TC foi de 81,25% para o teste de frio (Anexo - Tabela 1D), comparando-o com o somatório de todos os outros testes; 75% para a germinação (Anexo - Tabela 1C), ou seja, 12 dos 16 lotes mantiveram a mesma classificação, tanto no total quanto no teste em questão; e a taxa de correspondência entre o teste de condutividade elétrica e os demais foi de 62,5% (Anexo - Tabela 1E).

Recomenda-se uma melhora na metodologia do teste de Pettenkofer, pois usando 24 horas de embebição entre papel e duas horas no aparelho de Pettenkofer não se conseguiu uma boa relação entre a análise respiratória e outros testes de vigor, seja através de correlação simples, seja através da estimativa de desempenho.

Mais pesquisas devem oferecer retaguarda para o esclarecimento de dúvidas remanescentes como as combinações de tempo de embebição e de permanência no aparelho para sementes de milho, a fim de se definir uma metodologia mais exata, segura e capaz de identificar lotes com qualidades fisiológicas diferentes.

E pode-se considerar a avaliação do vigor de sementes de milho pelo uso do aparelho de Pettenkofer um método promissor, porque consegue discriminar os lotes e é baseado em fundamentos teóricos bem aceitos.

### **4.3 Análise isoenzimática**

A álcool-desidrogenase (ADH) atua no metabolismo anaeróbico, em que o acetaldeído é reduzido a etanol (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2005). Os produtos finais desse metabolismo fermentativo são tóxicos para as células, mas o etanol parece ser o produto do metabolismo fermentativo menos deletério comparado ao acetaldeído (ZHANG et al., 1994). Dessa forma, a

álcool-desidrogenase pode ser considerado um marcador de qualidade fisiológica, por sua baixa atividade representar um risco para a semente.

Isso pode ser observado (Figura 2), onde o lote 06 apresenta nítida diminuição da intensidade da banda, corroborando com os testes de vigor, que apresentam, no geral, esse lote com qualidade fisiológica inferior. Esse resultado colabora com Brandão Junior (1996), que observou uma diminuição da intensidade das bandas dessa enzima com o aumento do tempo de envelhecimento.

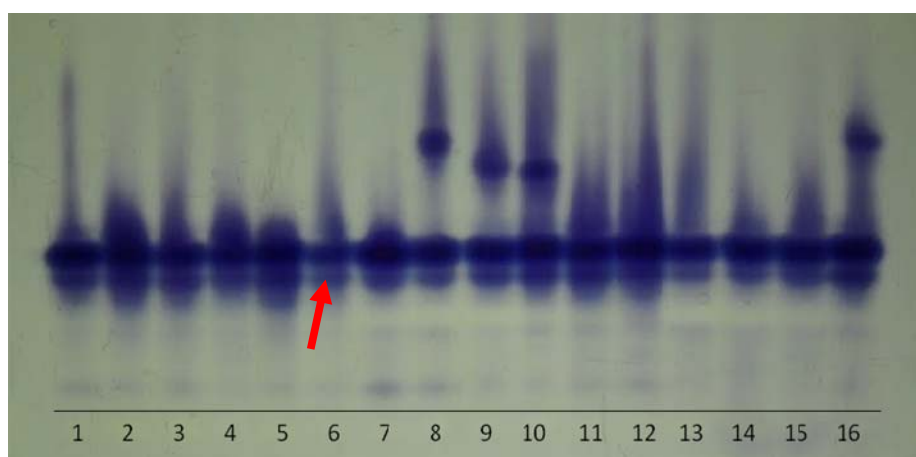


Figura 2 Perfil enzimático de álcool desidrogenase em dezesseis lotes de sementes de milho

Nos lotes 08, 09, 10 e 16 observa-se alteração no número de bandas, mas não houve correlação clara com a qualidade fisiológica, podendo ser atribuídas a fatores genéticos. Os lotes 01, 02, 07, 10, 12 e 16 apresentaram bandas com maior intensidade, o que também não tem relação com a qualidade fisiológica, visto que esses lotes foram discrepantes nos testes de vigor.

Camargo e Carvalho (2008), também verificaram que os perfis isoenzimáticos para a álcool desidrogenase (ADH) mostraram que não houve

alteração no número e na intensidade de bandas que pudesse estar associada à qualidade fisiológica de sementes de milho doce.

Em milho, essa enzima apresenta dois locos fortemente ligados (*Adh1* e *Adh2*), os quais são muito estudados sob o aspecto de regulação da expressão gênica por terem função definida sob condições anaeróbicas (TORGGLER; CONTEL; TORGGLER, 1995). Em um estudo realizado por Silva et al. (2000), os padrões eletroforéticos das enzimas malato desidrogenase, peroxidase, esterase, fosfatase ácida e glutamato oxalacetato transaminase de sementes de milho apresentaram-se alterados principalmente em função da presença de microrganismos, devendo ser usados com restrições nos testes de identificação de cultivares e certificação de pureza genética.

Assim, a ADH pode ser utilizada como ferramenta auxiliar, mas sua correlação com os testes de qualidade fisiológica é baixa, devendo-se tomar os devidos cuidados com a questão da genética e da qualidade sanitária das sementes.

A enzima malato desidrogenase (MDH) é uma enzima do ciclo de Krebs que transforma o malato em oxaloacetato produzindo um NADH, o qual é utilizado para gerar energia. Desta forma esta enzima está ligada a geração de energia para processos metabólicos importantes como a germinação das sementes. Além disso, participa do movimento do malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO<sub>2</sub> das plantas. (TAIZ; ZEIGER, 2009).



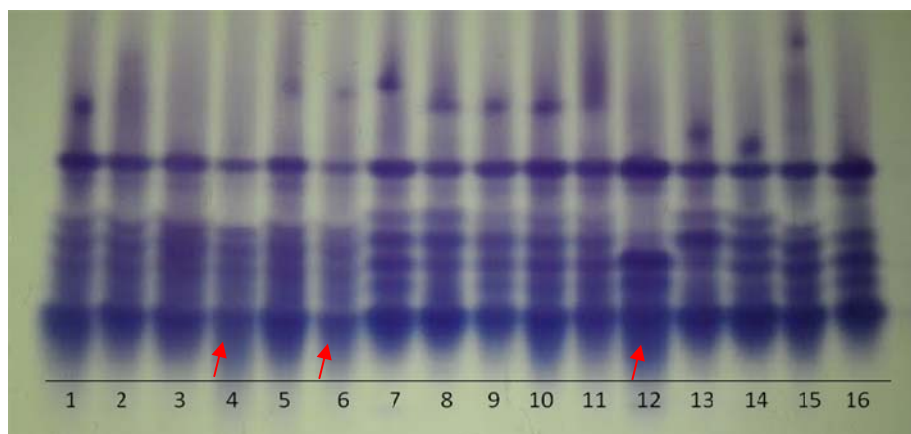


Figura 3 Perfil enzimático de malato desidrogenase em dezesseis lotes de sementes de milho

Em consequência do processo de deterioração das sementes ocorre um comprometimento da atividade respiratória destas. Sendo assim, sementes de qualidade fisiológica inferior deveriam apresentar bandas com menor intensidade.

A análise da banda comum no padrão isoenzimático da MDH (Figura 3) revelou que os lotes 04 e 06 apresentaram uma menor intensidade, correspondendo com a qualidade fisiológica desses lotes, que são os dois piores lotes no ranqueamento estatístico levando em consideração todos os testes. Já o lote 12 apresentou banda muito intensa mesmo sendo o penúltimo lote em atividade respiratória, analisada pelo aparelho de Pettenkofer. Os demais lotes apresentaram intensidade de banda semelhante, não sendo possível inferir a qualidade fisiológica destes pela MDH.

Brandão Junior (1996) não observou correlações entre a atividade da malato desidrogenase e a qualidade fisiológica de lotes de milho, e também Satters, Abdel-Guany e Elbagoury (1994) verificaram que essa enzima foi a menos afetada pelos tratamentos de envelhecimento em sementes de soja.

A esterase é uma enzima que participa da hidrólise de ésteres de membrana e está diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2004). Muitos desses lipídios são constituintes de membranas, e sua degradação aumenta quando se aumenta a deterioração.

Pelo padrão enzimático da esterase (Figura 4) verifica-se uma variedade de bandas, fato esse devido a variabilidade genética dos lotes. A banda principal inferior foi constante em todos os lotes, com exceção dos lotes 01 e 03.

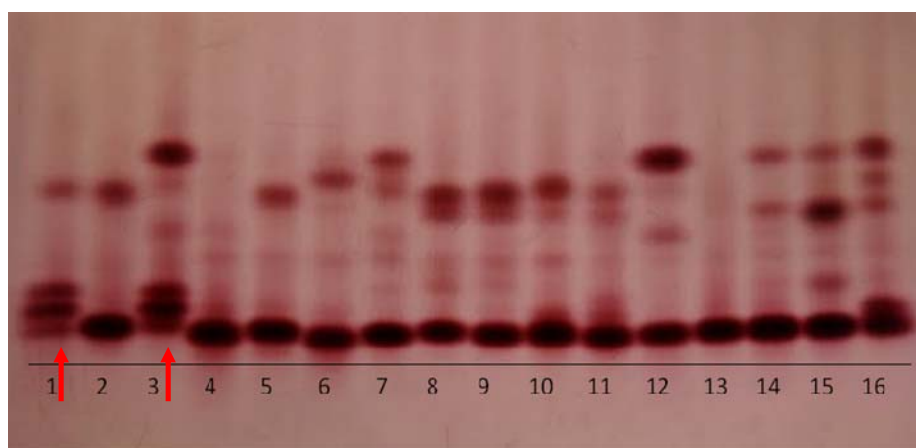


Figura 4 Perfil enzimático de esterase em dezesseis lotes de sementes de milho

Sua capacidade de identificação da qualidade fisiológica é baixa quando há mais de um híbrido sendo analisados, por causa da interferência genética, sendo mais usada como marcador para separação de híbridos, essa última opção com maior sucesso (MENEZES, 2005; SALGADO, 2001).

A enzima  $\alpha$ -amilase é a principal responsável pela degradação do amido, sendo responsável por 90% da atividade amilolítica em semente de milho. Pode ser detectada durante o início da germinação das sementes. Seu principal papel é fornecer substratos para utilização da plântula até que ela se torne fotossinteticamente auto-suficiente (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A atividade da  $\alpha$ -amilase pode ser evidenciada pelas bandas claras em fundo escuro devido à reação do iodo com o amido. As bandas claras aparecem onde o amido foi hidrolisado, ou seja, nos locais em que a enzima estava presente.

Observa-se (Figura 5) que os lotes 07 e 08 apresentaram alta intensidade de banda, o que sugere superioridade em qualidade fisiológica. Isso se correlaciona bem com o ranque de todos os testes de vigor que coloca esses dois lotes entre os primeiros. Por essa interpretação o lote 16 também deveria apresentar alta atividade enzimática, entretanto o fato não foi observado nesse trabalho. Às 70 horas de embebição para a extração podem não ter sido suficientes para a síntese de novo da enzima nesse material.

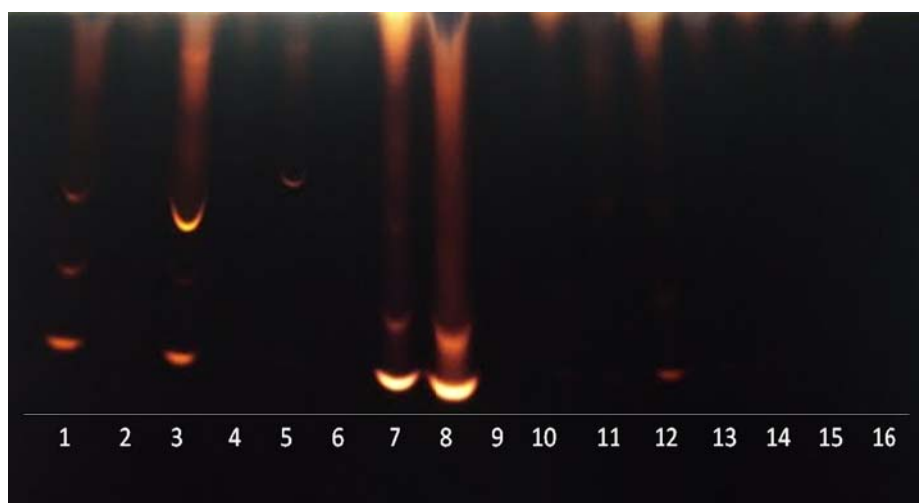


Figura 5 Perfil enzimático de  $\alpha$ -amilase em dezesseis lotes de sementes de milho

Os lotes 01, 03, 05 e 12 também expressaram essa enzima, mas em menor intensidade. Os demais lotes não tiveram atividade da  $\alpha$ -amilase.

Segundo Livesley e Bray (1991), o processo de deterioração das sementes pode interferir em enzimas presentes na camada de aleurona das

sementes durante o envelhecimento. Estas alterações podem influenciar na produção de amilase, que por sua vez, afeta a germinação. Logo, sementes com alta qualidade fisiológica apresentam alta atividade de  $\alpha$ -amilase.

Rosa (2000) observou maior atividade da enzima  $\alpha$ -amilase em sementes de milho com maiores valores de germinação e vigor, submetidos a diferentes tratamentos de secagem e colheita.

## **5 CONCLUSÕES**

A mensuração da respiração de sementes de milho pelo método de Pettenkofer é uma alternativa promissora para avaliação do vigor de lotes de sementes de milho;

A avaliação do vigor de sementes de milho pelo teste de Pettenkofer, após 24 horas de embebição entre papel e 2 horas no aparelho aos 25° C não é eficiente.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.
- ALIZAGA, L. R. et al. Avaliação de testes de vigor em sementes de feijão suas relações com a emergência a campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.12, n. 2, p. 44-57, 1990.
- AMARAL, A. S. **Desenvolvimento de testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 1994. 52 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1994.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/index/pdf>>. Acesso em: 14 fev. 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Cultivar purity testing**. Lansing, 1991. 371 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. Seed Vigor Test Committee. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 1983. 88 p. (Contribution, 32).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 2002. 105 p. (Contribution, 32).
- AUNG, U. T.; MCDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hipogaea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 101-111, Jan./Apr. 1995.
- BARROS, L. M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), tipos comum e anão precoce, por meio de técnicas multivariadas**. 1991. 256 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.
- BERKEY, D. A. Industry perspective of vigour testing. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.17, n. 2, p. 127-133, 1993.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BRACCINI, A. L. et al. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1053-1066, jun. 1999.

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

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

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

BREWER, G. J.; SING, C. F. **An introduction to isozyme techniques**. New York: Academic Press, 1970. 186 p.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry e molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2005. 1367 p.

BYRUM, J. R.; COPELAND, L. O. Variability in vigour testing of maize (*Zea mays* L.) seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 2, p. 543-549, 1995.

CALIARI, M. F. **Uso de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho, com ênfase nos conduzidos sob várias situações de disponibilidade hídrica**. 1999. 56 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

CALIARI, M. F.; SILVA, W. R. da. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 239-251, jul. 2001.

CAMARGO, M. L. P. et al. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e naturalmente. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 10, n. 2, p. 113-122, 2000.

CAMARGO, R.; CARVALHO, M. L. M. Armazenamento a vácuo de sementes de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30, n. 1, p. 131-139, 2008.

CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 1-30.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 429 p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Campinas: Fundação Cargil, 2000. 424 p.

CICERO, S. M.; VIEIRA, R. D. Teste de frio. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.151-164.

COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4th ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467 p.

CRISPIM, J. E. et al. Determinação da taxa de respiração em sementes de soja pelo método da titulação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB**, Brasília, v. 29, n. 10, p. 1517-1521, out. 1994.

DAN, E. L. et al. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 45-55, dez. 1987.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 427-452, July 1973.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n.1, p. 31- 42, jan./abr. 1996.



FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT database results**. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> >. Acesso em: 10 dez. 2010.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA PARA A SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Universidade de São Carlos, 2000. p. 255-258.

FRANK, W. J. Address to the Association of Official Seed Analysts. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Vollebekk, v. 16, p. 36-39, 1950.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do período e da temperatura de embebição para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 24, n. 2, p. 82-89, 2002.

GOTTLIEB, L. D. Electrophoretic evidence and plant systematic. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 64, n. 2, p. 161-180, 1977.

GRABE, D. F. Measurement of seed vigor. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 1, n. 2, p.18-31, 1976.

GUEDES, R. S. et al. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 793-802, out./dez. 2009.

GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 81 p.

HAMPTON, J. G.; JOHNSTONE, K. A.; EUA-UMPON, V. Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and French bean seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 677-686, Oct. 1992.

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

HILHORST, H. W. et al. **Curso avançado em fisiologia e tecnologia de sementes**. Lavras: UFLA, 2001. 74 p.

HÖFS, A. **Vigor de sementes de arroz e desempenho da cultura**. 2003. 44 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, 2003.

HUNTER, R. L.; MARKERT, C. L. Histochemical demonstration of enzyme separated by zone electrophoresis in starch gel. **Science**, Washington, v. 125, p. 1294-1295, June 1957.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seed testing**. Basseldorf, 2006. 303 p.

JOSÉ, S. C. B. R. et al. Padrões eletroforéticos da enzima  $\alpha$ -amilase em sementes de milho submetidas à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 77-83, 2004.

JUNQUEIRA, R. A. R.; MORABITO, R. Um modelo de otimização linear para o planejamento agregado da produção e logística de sementes de milho. **Produção**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 510-525, set./dez. 2006.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Crescimento inicial de soja em função do vigor de sementes. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, p. 163-166, 2006.

KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de comprimento de raiz de plântulas de soja. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 2, n. 1, p. 11-14, 1991.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 147 p.

LIVESLEY, M. A.; BRAY, C. M. The effects of ageing upon  $\alpha$ -amilase production and protein synthesis by aleurone layers. **Annals of Botany**, London, v. 68, n. 1, p. 69-73, July 1991.

LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 12, n. 1, p. 37-53, 1988.

- MACHADO, R. F. **Desempenho de aveia-branca (*Avena sativa* L.) em função do vigor de sementes e população de plantas**. 2002. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.
- MAESTRI, M.; ALVIM, P. de T; SILVA, M. A. P. **Fisiologia vegetal: exercícios práticos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 91 p. (Cadernos didáticos, 20).
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.
- MARCOS FILHO, J. O valor dos testes de vigor. **Seed News**, Pelotas, n. 6, p. 32, jul./ago. 1998.
- MARCOS FILHO, J. et al. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e sua relação com a emergência das plântulas em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 5, p. 605-613, maio 1984.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2007. 469 p.
- MARTIN, T. N. et al. Questões relevantes na produção de sementes de milho-primeira parte. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia - FZVA**, Uruguaiana, v. 14, n. 1, p. 119-138, 2007.
- MARTINS, L.; SILVA, W. R. Interpretação de dados obtidos em testes de vigor para a comparação qualitativa entre lotes de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 19-30, jun. 2005.
- MCDONALD JUNIOR, M. B.; WILSON, D. O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 4, n. 2, p. 1-11, 1979.
- MENDES, C. R. et al. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelota, v. 31, n. 2, p. 171-176, 2009.

MENEZES, M. **Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e de proteínas resistentes ao calor**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MOLINA, J. C.; IRIGON, D. L.; ZONTA, E. P. Comparação entre metodologias do teste de frio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 77-85, dez. 1987.

NOVEMBRE, A. D. L. C. Avaliação da qualidade de sementes. **Seed News**, Pelotas, v. 3, p. 24-28, maio/jun. 2001.

PÁDUA, G. P. de. Vigor de sementes e seus possíveis efeitos sobre a emergência em campo e produtividade. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 8, n. 1/2/3, p. 46-49, ago. 1998.

PASTEUR, N. et al. **Practical isoenzyme genetics**. New York: E. Horwood, 1988. 215 p.

PESKE, S.T.; LUCCA FILHO, O. A.; BARROS, A.C. S. A. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 2. ed. Pelotas: UFPeL, 2006. 470 p.

PIANA, Z.; SILVA, W. R. Respostas de sementes de milho com diferentes níveis de vigor, à disponibilidade hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 9, p. 1525-1531, set. 1998.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1977. 289 p.

POWELL, A. A. Cell membranes and seed leakage conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal Seed Technology**, Springfield, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

ROSSETTO, C. A.V.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre os métodos de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 123-131, jan./abr. 1995.

ROSA, S. D. V. F. da. **Indução de tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento a baixa temperatura.** 2000. 121 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

SÁ, M. E. **Relações entre a qualidade fisiológica, disponibilidade hídrica e desempenho de sementes de soja (*Glycine Max (L.) Merrill*).** 1987. 147 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

SALGADO, K. C. de C. **Certificação da pureza genética em sementes híbridas de milho por meio de marcadores morfológicos e moleculares.** 2001. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. V. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 110-119, 2004.

SATTERS, J. R.; ABDEL-GUANY, A.; ELBAGOURY, O. Soybean seed deterioration and response to priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seed. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 33-41, Mar. 1994.

SCHUAB, S. R. P. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de soja por meio da taxa de crescimento das plântulas e do teste de germinação sob estresse hídrico.** 2003. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

SCHUCH, L. O. B. **Vigor das sementes e aspectos da fisiologia da produção em aveia-preta (*Avena strigosa Schreb.*).** 1999. 127 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1999.

SILVA, E. A. A. et al. Alterações nos padrões de isoenzimas em sementes de milho infectadas por fungos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 9, p. 1725-1732, set. 2000.

SILVA, T. T. A. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 840-846, maio/jun. 2008.

SOUZA, L. A. **Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade de sementes de mamona**. 2007. 54 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isozymes**: developments in plant genetic and breeding: parte A. New York: Elsevier, 1983. 516 p.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas**: variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 186 p.

VANZOLINI, S. et al. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 90-96, ago. 2007.

VIEIRA, M. G. G. C. **Técnicas moleculares em sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 86 p.

VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. cap. 4, p. 103-132.

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

WILLYDER, L. R. P. **Testes de vigor em sementes de milho**. 2010. 50 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

WOODSTOCK, L. W. Physiological and biochemical tests of seed vigor. **Seed Science and Technology**, Zürich v. 1, n. 1, p. 127-157, Apr. 1973.

ZHANG, M. et al. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wellingford, v. 4, n. 1, p. 49-56, Mar. 1994.

## ANEXOS

Tabela 1A Coeficientes de correlação linear simples (r) entre os testes de vigor analisados

	<b>%G</b>	<b>%E</b>	<b>IVE</b>	<b>TME</b>	<b>TF</b>	<b>CE</b>	<b>CPA</b>	<b>CR</b>	<b>MSPA</b>	<b>MSR</b>	<b>PETT</b>
<b>PC</b>	0,8006**	0,6334**	-0,3682**	0,5861**	0,6561**	0,0090ns	0,4508**	0,3513**	0,3199**	0,2797*	0,4477**
<b>%G</b>		0,7375**	-0,3928**	0,6696**	0,8116**	-0,1049ns	0,5644**	0,4680**	0,4256**	0,3696**	0,4333**
<b>%E</b>			-0,6236**	0,9428**	0,9142**	-0,3499**	0,6188**	0,6381**	0,5484**	0,4849**	0,2959*
<b>IVE</b>				-0,8362**	-0,6131**	0,1135ns	-0,5602**	-0,6008**	-0,5409**	-0,5094**	-0,2000ns
<b>TME</b>					0,8731**	-0,3013*	0,6648**	0,6878**	0,6200**	0,5497**	0,2639*
<b>TF</b>						-0,2673*	0,5840**	0,5852**	0,5111**	0,4725**	0,3506**
<b>CE</b>							-0,1811ns	-0,1986ns	-0,4546**	-0,4818**	0,4259**
<b>CPA</b>								0,8515**	0,8423**	0,6730**	0,1931ns
<b>CR</b>									0,7279**	0,6438**	0,1754ns
<b>MSPA</b>										0,8533**	-0,1365ns
<b>MSR</b>											-0,0839ns

\* Significativo pelo teste t aos 5% de probabilidade; \*\* Significativo pelo teste t a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste t

Tabela 1B Classificação estatística: exemplo hipotético de pontuação por teste, de pontuação geral, de formação de grupos SM (Superior ao Médio), IM (Inferior ao Médio) e M (Médio) nos conjuntos de testes A e B, de contagem do número de lotes pertencentes ao mesmo grupo em ambos os conjuntos de testes (A e B) e de cálculo de taxa de coincidência (TC=número de lotes pertencentes ao mesmo grupo x número total de lotes<sup>-1</sup>.100)

Classificação estatística														
Lotes	Conjunto A							Conjunto B						A e B
	Teste 1		Teste 2		Pontuação			Teste 3		Teste 4		Pontuação		Coinci- dência
	Dados	Pontuação	Dados	Pontuação	Geral	M=0	Dados	Pontuação	Dados	Pontuação	Geral	M=0		
L1	100 a	2+0 = 2	94 bc	0+(-1) = -1	1	SM	96 a	2+0 = 2	99 a	1+0 = 1	3	SM	1	
L2	99 ab	1+0 = 1	97 bc	0+(-1) = -1	0	M	86 c	0+(-4) = -4	97 a	1+0 = 1	-3	IM	0	
L3	91 abc	0+0 = 0	100 a	3+0 = 3	3	SM	94 a	2+0 = 2	92 ab	1+0 = 1	3	SM	1	
L4	89 bc	0+(-1) = -1	93 c	0+(-2) = -2	-3	IM	90 b	1+(-2) = -1	92 ab	1+0 = 1	0	M	0	
L5	87 c	0+(-2) = -2	99 ab	1+0 = 1	-1	IM	92 ab	1+(0) = 1	86 c	0+(-4) = -4	-3	IM	1	
												Total = 3		
												TC=3.5 <sup>-1</sup> .100=60%		



Tabela 1C Pontuação e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes no total dos testes e no teste de Germinação a partir da classificação estatística e cálculo da Taxa de Correspondência (TC)

Lote	Total		Germinação		Presença no mesmo grupo
	Pont.	Grupo	Pont.	Grupo	
1	-28	IM	1	SM	0
2	-40	IM	1	SM	0
3	4	SM	1	SM	1
4	-54	IM	-1	SM	0
5	-4	SM	1	SM	1
6	-94	IM	-15	IM	1
7	37	SM	1	SM	1
8	62	SM	1	SM	1
9	29	SM	1	SM	1
10	30	SM	1	SM	1
11	-15	SM	1	SM	1
12	-17	IM	-1	SM	0
13	21	SM	1	SM	1
14	20	SM	1	SM	1
15	23	SM	3	SM	1
16	46	SM	3	SM	1
Total =					12
TC (%) =					75

Tabela 1D Pontuação e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes no total dos testes e no Teste de Frio a partir da classificação estatística e cálculo da Taxa de Correspondência (TC)

Lote	Total		Teste de Frio		Presença no mesmo grupo
	Pont.	Grupo	Pont.	Grupo	
1	-24	IM	-3	SM	0
2	-28	IM	-11	IM	1
3	2	SM	3	SM	1
4	-44	IM	-11	IM	1
5	-2	SM	-1	SM	1
6	-94	IM	-15	IM	1
7	30	SM	8	SM	1
8	57	SM	6	SM	1
9	25	SM	5	SM	1
10	27	SM	4	SM	1
11	-5	SM	-9	IM	0
12	-21	IM	3	SM	0
13	17	SM	5	SM	1
14	15	SM	6	SM	1
15	22	SM	4	SM	1
16	43	SM	6	SM	1
				Total =	13
				TC (%) =	81,25

Tabela 1E Pontuação e grupos de desempenho superior ao médio (SM), médio (M) e inferior ao médio (IM), atribuídos aos 16 lotes no total dos testes e no teste de Condutividade elétrica a partir da classificação estatística e cálculo da Taxa de Correspondência (TC)

Lote	Total		Cond. Elétrica		Presença no mesmo grupo
	Pont.	Grupo	Pont.	Grupo	
1	-15	SM	-12	IM	0
2	-30	IM	-10	IM	1
3	33	SM	-14	IM	0
4	-44	IM	-9	IM	1
5	1	SM	-7	IM	0
6	-105	IM	-1	IM	1
7	26	SM	10	SM	1
8	53	SM	7	SM	1
9	31	SM	-2	IM	0
10	23	SM	7	SM	1
11	-19	SM	3	SM	1
12	-25	SM	2	SM	0
13	30	SM	-4	IM	0
14	14	SM	7	SM	1
15	14	SM	10	SM	1
16	33	SM	13	SM	1
				Total =	10
				TC (%) =	62,5

Tabela 1F Sementes de milho utilizadas

<b>Lote</b>	<b>Híbridos</b>
1	Nidera Sementes
2	Nidera Sementes
3	Nidera Sementes
4	Nidera Sementes
5	Nidera Sementes
6	Nidera Sementes
7	Biomatrix BM 3061
8	Biomatrix BM 810
9	IAC 8333
10	IAC 8390
11	AL Bandeirante
12	Chimarrão BR 106-X
13	BF 9417
14	Monsanto DKB 240YG
15	Monsanto DKB 330YG
16	Prezzoto PRE 32010