



**INTERFERÊNCIA DE ALGUNS FUNGOS
NO TESTE DE TETRAZÓLIO E DE DANOS
MECÂNICOS, TRATAMENTO FUNGICIDA E
DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DE
SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)**

MARY CLEIDE HERNANDES MANTOVANELI

2001

1942

1943

1944

1945

1946

52872

MF015544

MARY CLEIDE HERNANDES MANTOVANELI

**INTERFERÊNCIA DE ALGUNS FUNGOS NO TESTE DE
TETRAZÓLIO E DE DANOS MECÂNICOS, TRATAMENTO
FUNGICIDA E DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DE
SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

Orientadora:
Prof.^a Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira



LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

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

Mantovaneli, Mary Cleide Hernades

Interferência de alguns fungos no teste de tetrazólio e de danos mecânicos, tratamento fungicida e do armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) / Mary Cleide Hernades Mantovaneli. -- Lavras : UFLA, 2001.

173 p. : il.

Orientadora: Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Milho. 2. Semente. 3. Tetrazólio. 4. Fungo. 5. Dano mecânico. 6. Armazenamento. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.1594

-633.1521

MARY CLEIDE HERNANDES MANTOVANELI

**INTERFERÊNCIA DE ALGUNS FUNGOS NO TESTE DE
TETRAZÓLIO E DE DANOS MECÂNICOS, TRATAMENTO
FUNGICIDA E DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DE
SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 11 de dezembro de 2001.

Dr. Antônio Rodrigues Vieira
Prof. Dr. José da Cruz Machado
Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
Prof. Dr. Rubens Sader

EPAMIG
UFLA
UFLA
FCAV/UNESP


Prof. Dra. Máfia das Graças Guimarães Carvalho Vieira

UFLA

(Orientadora)

**LAVRAS
MINS GERAIS – BRASIL**

Aos meus pais José e Célia

À minha irmã Sueli

Aos meus sobrinhos Natália e Lucas

OFEREÇO

Aos meus filhos Gledson, Bruno e Thiago

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Dra. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pela orientação atenta, constante e segura e pelos conhecimentos passados com desprendimento e abnegação.

Aos Co-orientadores Prof. Dr. José da Cruz Machado, Pesq. Dr. João Almir Oliveira, Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho, pela prestimosa contribuição e em especial, à professora Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, primeira orientadora e responsável pela realização da microscopia eletrônica na Holanda.

Às Empresas Sementes Agrocères e Cargill, que cederam as sementes para realização dos ensaios.

Aos estagiários Luciano Sbardellini, Rodrigo da Cunha Serpa e Alexandre Noda pela inestimável contribuição na execução dos experimentos.

Aos funcionários do setor de sementes, especialmente Andréa, Elza e Ana Lúcia pelo apoio e amizade.

Aos colegas de curso, pela convivência profícua e aprendizado mútuo.

Aos muitos novos e velhos amigos, pelo apoio indispensável.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 Introdução Geral.....	1
CAPÍTULO 1: Interferência e Fungos na Interpretação do Teste de Tetrazólio em Sementes de Milho (<i>Zea mays</i> L.)	03
Resumo.....	03
Abstract.....	04
1 Introdução.....	05
2 Referencial Teórico.....	07
2.1 Teste de tetrazólio na avaliação da deterioração.....	07
2.2 Interação microrganismo/semente.....	08
2.3 Efeitos de microrganismos associados às sementes na qualidade fisiológica.....	15
2.4 Alterações celulares associadas à presença de microrganismos em sementes.....	17
2.5 Alterações bioquímicas associadas à presença de microrganismos em sementes.....	19
3 Material e Métodos.....	27
3.1 Caracterização inicial da qualidade das sementes.....	27
3.1.1 Umidade.....	27
3.1.2 Danos mecânicos.....	28
3.1.3 Exame de sementes infestadas.....	28
3.1.4 Primeira contagem e germinação.....	28
3.1.5 Teste de sanidade.....	29
3.2 Preparo do inóculo e instalação do ensaio.....	30
3.3 Avaliações.....	31
3.3.1 Primeira contagem e germinação.....	31
3.3.2 Teste de frio.....	31
3.3.3 Teste de tetrazólio.....	32
3.3.4 Teste de condutividade elétrica.....	32
3.3.5 Emergência em canteiro.....	32
3.3.6 Índice de velocidade de emergência.....	33
3.3.7 Teste de sanidade.....	33
3.3.8 Análise eletroforética de isoenzimas.....	33
3.3.9 Análise de ultraestrutura.....	34
3.4 Procedimento estatístico.....	35

4 Resultados e Discussão.....	36
5 Conclusões.....	57
6 Referências Bibliográficas.....	58

CAPÍTULO 2: Influência de danos mecânicos, tratamento fungicida e ambiente armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.).....

Resumo.....	67
Abstract.....	68
1 Introdução.....	69
2 Referencial Teórico.....	70
2.1 Deterioração de sementes.....	70
2.2 Efeito da condição de armazenamento na deterioração das sementes.....	71
2.3 Efeito de danos mecânicos na deterioração das sementes.....	75
2.4 Interferência de microrganismos na deterioração de sementes.....	79
2.5 Tratamento fungicida.....	83
3 Material e Métodos.....	85
3.1 Caracterização inicial da qualidade das sementes.....	85
3.1.1 Umidade.....	85
3.1.2 Danos mecânicos.....	85
3.1.3 Exame de sementes infestadas.....	86
3.1.4 Primeira contagem e germinação.....	86
3.1.5 Emergência em canteiro.....	86
3.1.6 Teste de sanidade.....	87
3.2 Tratamentos.....	88
3.3 Avaliações.....	89
3.3.1 Umidade.....	89
3.3.2 Primeira contagem e germinação.....	89
3.3.3 T-50.....	90
3.3.4 Teste de frio.....	90
3.3.5 Teste de tetrazólio (viabilidade, vigor e nota média).....	90
3.3.6 Teste de condutividade elétrica.....	91
3.3.7 Emergência em canteiro.....	91
3.3.8 Índice de velocidade de emergência (IVE).....	91
3.3.9 Teste de sanidade.....	91
3.4 Procedimento estatístico.....	92
4. Resultados e Discussão.....	93
5. Conclusões.....	122
6. Referências Bibliográficas.....	123

CAPÍTULO 3: Relação entre o teste de deterioração controlada e a performance de sementes de milho sob diferentes condições de armazenamento.....	134
Resumo.....	134
Abstract.....	135
1 Introdução.....	136
2 Referencial Teórico.....	138
2.1 Avaliação da qualidade de sementes.....	138
2.2 Teste de deterioração controlada na previsão da longevidade das Sementes.....	139
3 Material e Métodos.....	143
3.1 Caracterização inicial da qualidade das sementes.....	143
3.1.1 Umidade.....	143
3.1.2 Danos mecânicos.....	143
3.1.3 Exame de sementes infestadas.....	144
3.1.4 Germinação.....	144
3.1.5 Emergência em canteiro.....	144
3.2 Tratamentos.....	145
3.3 Avaliações.....	147
3.3.1 Germinação.....	147
3.3.2 Teste de frio.....	147
3.3.3 Teste de tetrazólio (viabilidade e vigor).....	147
3.3.4 Emergência em canteiro.....	148
3.4 Procedimento estatístico.....	148
4. Resultados e Discussão.....	149
5. Conclusões.....	159
6. Referências Bibliográficas.....	160
ANEXOS.....	163

RESUMO

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes Mantovaneli. Interferência de alguns fungos no teste de tetrazólio e de danos mecânicos, tratamento fungicida e do armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). 2001. 173p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Foram conduzidos três experimentos no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes e no Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG. Foram utilizadas sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, obtidas das Empresas de Sementes Agroceres e Sementes Cargill. O primeiro experimento teve por objetivo avaliar a interferência de microrganismos na interpretação do teste de tetrazólio. As avaliações foram realizadas pelos testes de primeira contagem, germinação, frio, tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor, condutividade elétrica, emergência em substrato de terra e areia, índice de velocidade de emergência, sanidade, eletroforese de isoenzimas e ultraestrutura. De acordo com os resultados, os microrganismos, quando em associação com sementes, interferem no padrão de coloração do teste de tetrazólio, além de superestimar os valores de viabilidade. O segundo experimento teve por objetivo avaliar o efeito de danos mecânicos, tratamento fungicida e condição de armazenamento sobre a qualidade de sementes de milho. Para tanto, as sementes foram avaliadas por meio dos testes de primeira contagem, germinação, frio, tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor, tetrazólio-nota média, condutividade elétrica, emergência em substrato de terra e areia, índice de velocidade de emergência, T-50 e sanidade. Pelos resultados, concluiu-se que sementes de milho, armazenadas sob condições controladas apresentam qualidade superior àquelas armazenadas sob condições de ambiente; sementes com menor nível de dano mecânico apresentam qualidade fisiológica superior em relação às de maior nível, antes e após armazenamento por 12 meses; o tratamento fungicida é eficiente em controlar fungos de armazenamento em sementes de milho, mas pode causar fitotoxicidade, principalmente em sementes danificadas mecanicamente e armazenadas por 12 meses, sob condições de ambiente. No terceiro experimento procurou-se determinar as condições de umidade das sementes e período de envelhecimento do teste de deterioração controlada, com vistas a diferenciar e classificar lotes e prever a

Comitê Orientador: Prof^ª Dr^ª Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Orientadora), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^ª Dr^ª Maria Laene Moreira de Carvalho, Pesq. Dr. João Almir Oliveira, Prof^ª Dr^ª Édila Vilela de Resende Von Pinho.

emergência/germinação de sementes de milho, após armazenamento sob condições controladas e de ambiente. Antes do armazenamento foram efetuados os testes de deterioração controlada, ajustando-se o teor de água das sementes para 13 e 20% de umidade, com períodos de envelhecimento de 24, 48 e 72 horas a 41°C, em seguida foi efetuado o teste de germinação. Após 12 meses, avaliaram-se germinação, emergência, teste de frio, tetrazólio-viabilidade e vigor. Os resultados permitiram concluir que a umidade das sementes e período de envelhecimento para diferenciar, classificar e prever a emergência após o armazenamento variam em função do híbrido e das condições de armazenamento.

ABSTRACT

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes Mantovaneli. Interference of some fungi in the Tetrazolium test and of mechanical damages, fungicide treatment and storage conditions in the quality of maize seeds (*Zea mays* L.). 2001. 173p. Thesis (Doctorate in Crop Science)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Three experiments were carried out in the Laboratory of Seed Analysis and Biotechnology and Laboratory of Seed Pathology of the Universidade Federal de Lavras/MG. In all experiments seeds of two hybrids line, A-122 and C-901 provided by the Companies Agroceres and Cargill were used. In the first experiment the objective was to evaluate the effects of fungi in the development of the colour pattern and in the scoring of the intensity by the TZ test. Evaluations were carried out for the following tests: 1st germination count, standard germination, cold test, TZ-viability, TZ-vigour, electrical conductivity, emergence in soil, emergence speed index, seed health, eletrophorese of isoenzymes and ultrastructure. According to the results, fungi when associated with seeds interfere in the colour pattern of the TZ test, and then on the results of this test, overestimating the values of viability. In the second experiment the objective was to assess the effect of mechanical damages, fungicidal treatment and storage conditions on the final quality of maize seeds. Seeds were evaluated by the tests: 1st count, standard germination, cold test, TZ viability and vigour, emergence in soil, emergence speed index, T50 and seed health. It was concluded that maize seeds stored under controlled conditions present superior quality compared to those stored under environmental conditions; seeds with lower level of mechanical damages presented physiological quality superior in relation to those with more mechanical damage, before and after 12 months storage. The fungicide treatment was efficient to control storage fungi in maize seeds, although they may cause phytotoxicity in seeds mechanical damaged and stored under environmental conditions for 12 months. In the third experiment the objective was to determine the conditions of seed water content and aging period of the controlled deterioration test to differentiate and to rank seed lots and to predict the emergence/germination of maize seeds after 12 months storage under controlled and environmental conditions. The controlled

Guidance Committee: Prof^a Dr^a Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Major Professor), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^a Dr^a Maria Laene Moreira de Carvalho, Pesq. Dr. João Almir Oliveira, Prof^a Dr^a Édila Vilela de Resende Von Pinho.

Deterioration tests were carried out before seed storage. For that seed water content was adjusted to 13 or 20 percent by aging for 24, 48 or 72 hours at 41°C. After 12 months storage seeds were evaluated by the following tests: germination, cold test, tetrazolium viability, tetrazolium vigor, and emergence.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A semente é um dos principais, senão o principal insumo da agricultura. Sua qualidade é determinada por atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, que são de fundamental importância para o sucesso do cultivo comercial de qualquer espécie.

A qualidade potencial da semente depende de sua herança genética, mas a sua qualidade efetiva depende também das condições ambientais em que foi produzida e armazenada e das tecnologias utilizadas durante a produção, colheita, secagem, beneficiamento e comercialização. O processo de deterioração abrange um conjunto de transformações degenerativas contínuas, que pode ter início mesmo antes da maturidade fisiológica e vai até à perda total da viabilidade da semente, que pode ser causada tanto por fatores internos, quanto por externos. O genótipo é fator intrínseco que define as características bioquímicas e fisiológicas da semente. Essas características associadas a fatores externos podem acelerar ou retardar o processo de envelhecimento. Os fatores externos são o ambiente físico e biótico presentes durante os processos de desenvolvimento, maturação, colheita, condicionamento, armazenamento, etc.

Durante o período de maturação, as sementes podem ser infectadas e colonizadas por numerosas espécies de fungos. Alguns desses fungos são patogênicos e causam sérias reduções na produção e decréscimo na germinabilidade e vigor das sementes, outros, de propriedades saprofiticas causam danos aparentes, tais como descoloração e ponta preta dos grãos, mas podem contribuir sobremaneira com o processo deteriorativo das sementes.

Com a utilização de técnicas cada vez mais sofisticadas para a produção, as sementes ficaram mais caras, tornando maiores as exigências da própria

indústria de sementes, em relação à qualidade destas. Assim a utilização de testes capazes de detectar perdas na qualidade fisiológica, antes que essas sejam detectadas pelo teste padrão de germinação, é imprescindível.

No primeiro capítulo deste trabalho, procurou-se avaliar a interferência da associação das sementes com microrganismos na interpretação do teste de tetrazólio em dois híbridos de milho.

O segundo capítulo teve por objetivo determinar o efeito de diferentes níveis de dano mecânico e tratamento fungicida na qualidade de sementes de milho, armazenadas por 12 meses, sob condições controladas e de ambiente, nos híbridos Ag-122 e C-901.

No terceiro capítulo procurou-se adaptar a metodologia do teste de deterioração controlada para sementes de milho e determinar a melhor combinação de umidade e período de envelhecimento para estimar a qualidade de sementes de milho com dois níveis de dano mecânico e tratamento fungicida, após 12 meses sob duas condições de armazenamento.

CAPÍTULO 1

INTERFERÊNCIA DE FUNGOS NA INTERPRETAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)

RESUMO

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes. Interferência de microrganismos na interpretação do teste de tetrazólio em sementes de milho (*Zea mays* L.). 2001. 173p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Metabólitos secundários e/ou enzimas produzidas por microrganismos, quando em associação com sementes, podem interferir no padrão de coloração desenvolvido no teste de tetrazólio, levando a erros de interpretação. Com o objetivo de avaliar a influência da associação de microrganismos nos resultados do teste de tetrazólio em sementes de milho, foram conduzidos ensaios no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes e no Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG. Foram utilizadas sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901 obtidas das Empresas de Sementes Agroceres e Cargill. Os tratamentos constaram de: controle sem nenhum tratamento e sem incubação; testemunha sem tratamento fungicida, com incubação (BOD a 25°C e ±95% UR/7 dias); tratamento com fungicida thiabendazole e incubação; inoculação com *Aspergillus flavus* e incubação; inoculação com *Penicillium* sp. e incubação; inoculação com *Fusarium moniliforme* e incubação. As avaliações foram feitas pelos testes de primeira contagem, germinação, frio, tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor, condutividade elétrica, emergência em canteiro, índice de velocidade de emergência, sanidade, eletroforese de isoenzimas e ultraestrutura. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (6x2), sendo seis tratamentos e dois híbridos. Os resultados permitiram concluir que os microrganismos, quando em associação com sementes, interferem na interpretação do teste de tetrazólio e que sementes, quando em associação com microrganismos, têm a viabilidade, determinada pelo tetrazólio, superestimada.

Comitê Orientador: Prof^ª Dr^ª Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Orientadora), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^ª Dr^ª Maria Laene Moreira de Carvalho, Pesq. Dr. João Almir Oliveira, Prof^ª Dr^ª Édila Vilela de Resende Von Pinho.

ABSTRACT

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes. **Interference of fungi in the interpretation of the tetrazolium test for maize seeds (*Zea mays* L.).** 2001. 173p. Thesis (Doctorate in Crop Science)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Secondary metabolites and/or enzymes produced by microorganisms may interfere on the colour pattern developed by tetrazolium test when they are associated with seeds leading to misinterpretation of the results. This work was conducted to evaluate such effect when fungi are associated with seeds of maize. Seeds used in this work belonged to hybrids Ag-122 and C-901, provided by the Companies Agrocere and Cargill. The statistical treatments were: 1- control, 2- control with incubation (BOD 25°C, 95 RH for 7 days), 3- treated seeds with fungicide, thiabendazol and incubation, 4- inoculated seeds with *Aspergillus flavus* with incubation, 5- inoculated seeds with *Penicillium* sp. with incubation and 6- inoculated seeds with *Fusarium moniliforme* with incubation. The evaluation was made considering 1st germination count, germination, cold test, TZ viability, TZ vigour, electric conductivity, emergence in soil, emergence speed index, seed health, eletrophorese of isoenzymes and ultrastructure. The statistical design was entirely randomized design, in factorial scheme 6x2, with 6 treatments and two hybrids and 4 replications. The results showed that fungi may interfere in the interpretation of tetrazolium test; and contaminated seeds present viability overestimated.

Guidance Committee: Prof^a Dr^a Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Major Professor), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^a Dr^a Maria Laene Moreira de Carvalho, Pesq. Dr. João Almir Oliveira, Prof^a Dr^a Édila Vilela de Resende Von Pinho.

1 INTRODUÇÃO

O milho é uma cultura de grande expressão econômica e social em vários países do mundo. No Brasil é cultivado em todo o território nacional, ocupando a maior área cultivada e com perspectivas de expansão. A utilização de sementes de alta qualidade é de fundamental importância nesse processo. No entanto, a manutenção da qualidade das sementes constitui-se num grande problema para a agricultura no mundo inteiro, principalmente em regiões tropicais onde as temperaturas e umidades relativas geralmente são elevadas durante os períodos de maturação e armazenamento das sementes.

A perda de viabilidade das sementes é proporcionada por vários fatores, dentre os quais, destaca-se a ação de microrganismos, que influencia diretamente o processo deteriorativo durante o armazenamento.

A busca de métodos rápidos, precisos e de custo reduzido, que sejam capazes de detectar a deterioração de sementes, já nas fases iniciais do processo, apresenta-se como um dos pontos de relevada importância no sistema de produção de sementes. Muitos métodos têm sido desenvolvidos visando a determinar a causa e os níveis de deterioração de sementes, mas esses ainda apresentam certas limitações. Os testes que têm como princípio a atividade de enzimas têm se apresentado promissores. Dentre esses, destaca-se o teste de tetrazólio. Diversos trabalhos de pesquisa visando a detectar alterações deteriorativas pelo teste de tetrazólio têm sido desenvolvidos, contudo, muitos pontos ainda não foram elucidados, gerando dúvidas na interpretação. Dentre estes, destacam-se a interferência de metabólitos e/ou enzimas produzidas por microrganismos quando em associação com as sementes no desenvolvimento de coloração, o que, além de gerar dúvidas por ocasião da leitura, tem

impossibilitado a automatização do teste. Metabólitos secundários e/ou associação de microrganismos desenvolvem um padrão de coloração, o que leva muitas vezes a erros na interpretação do teste, fazendo com que os resultados não retratem o real estado de deterioração do lote. Dessa forma, pelo presente trabalho teve-se como objetivo avaliar a interferência de microrganismos associados às sementes de dois híbridos de milho, na interpretação do teste de tetrazólio.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Teste de tetrazólio na avaliação da deterioração

O teste de tetrazólio é baseado na atividade das enzimas desidrogenases, envolvidas nas reações de oxi-redução de compostos orgânicos durante o processo respiratório, como a desidrogenase do ácido málico. Essas enzimas atuam na redução do sal de tetrazólio (2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio) nas células vivas. Quando a semente é imersa na solução de tetrazólio, esta é difundida através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução que resulta na formação de um composto vermelho, não difusível, o formazan (AOSA, 1983; França Neto, 1992).

Segundo Delouche *et al.* (1976), Lakon desenvolveu o teste de tetrazólio, inicialmente para milho e cereais pequenos. Atualmente, o teste de tetrazólio vem sendo utilizado para várias espécies.

Segundo Popinigis (1985); França Neto (1992) e Moore (1972), durante o teste de tetrazólio, embriões vigorosos absorvem a solução de tetrazólio vagorosamente, dando uma coloração menos pronunciada, que se reduz da superfície para o interior da semente. Modificações distintas na cor, entre tecidos firmes e normalmente coloridos, para coloração branca e tecidos flácidos, são evidências de que os tecidos não coloridos estão mortos. A intensidade e a configuração da coloração são fatores importantes, porém não os únicos a serem observados. Outros, também de grande importância, são o turgor dos tecidos, a presença de fraturas e injúrias, galerias feitas por insetos e a localização de necroses. Quando a deterioração é recente, os tecidos injuriados tendem a desenvolver uma coloração vermelho escura, indicando uma rápida penetração da solução de tetrazólio e elevada atividade respiratória. Com base nesse tipo de

observações, Moore (1962) desenvolveu um método no qual as sementes são classificadas de acordo com o grau de deterioração e que passou a ser adotado como teste de vigor de sementes.

O teste de tetrazólio, comparado a outros testes de vigor, apresenta vantagens tais como simplicidade, facilidade, economia, rapidez e repetitividade de resultados. Uma outra vantagem, segundo Marcos Filho *et al.* (1987) e Krzyzanowski *et al.* (1991) é que os microrganismos que são danosos às plântulas não se manifestam e portanto praticamente não interferem nos resultados dos testes. Porém, Vieira *et al.* (1993) avaliando a capacidade do teste de tetrazólio em prever o vigor de sementes de milho, em lotes com níveis diferentes de qualidade fisiológica, relataram que, enquanto os testes padrão de germinação, envelhecimento acelerado (40°C/72 h) e condutividade elétrica separaram os lotes em 3 níveis de qualidade, o teste de tetrazólio (1-3), assim como o estande aos 21 dias e o índice de velocidade de emergência, foram menos eficientes na identificação de diferenças de vigor e separaram os lotes em apenas 2 níveis de qualidade. Por outro lado, Moore (1951) observou que os resultados do teste de tetrazólio e o de germinação padrão foram semelhantes em sementes de milho. Entretanto, discrepâncias podem ocorrer entre esses resultados, por vários motivos, entre eles destaca-se a presença de fungos. De acordo com Smith & Berjak (1995), a micoflora associada internamente sobrevive à própria semente, e respira. Essa atividade bioquímica e metabólica dos fungos, segundo Moore (1951) e Vieira & Von Pinho (1999), pode induzir a falsos resultados da viabilidade das sementes quando da interpretação do teste.

2.2 Interação microrganismo/semente

No processo deteriorativo ocorrem mudanças fisiológicas e estruturais independentes dos microrganismos, mas a presença desses aumenta o nível de

deterioração da estrutura celular (Barton, 1985; Cherry & Skadsen, 1983 citados por Vieira, 1996).

A presença de fungos no interior da semente permanece macroscopicamente indetectável por um longo tempo, durante o qual o crescimento fúngico continua às expensas dos tecidos da semente e assim, metabólitos fúngicos vão sendo acumulados. Isso causa danos que podem levar, finalmente, à completa perda de viabilidade da semente (Berjak, 1987).

O efeito dos microrganismos em sementes, nos aspectos bioquímico e molecular, é pouco elucidado, entretanto, quando ocorre infecção acentuada, pode ocorrer injúria à semente, levando à descoloração, enrugamento e redução na qualidade fisiológica (Machado, 1988).

Muitos fatores estão envolvidos no estabelecimento dos fungos dentro dos tecidos da semente. Embora esses fatores sejam, em parte, dependentes da constituição genética das sementes, os maiores problemas de deterioração fúngica que ocorrem, quando em condição de armazenamento, têm sua origem no campo. As cultivares podem reagir de forma diferente à contaminação fúngica nas sementes por várias razões, como o nível de fenólicos, a espessura do tegumento e o revestimento ceroso que pode variar entre as cultivares, afetando o processo de infecção (Hoernisch & Davis, 1994; Jones & Clifford, 1983, citados por Mycock & Berjak, 1995). Tais barreiras estão sob controle genético (Agarwal & Sinclair, 1987) e a seleção de cultivares resistentes é desejável. Porém, as muitas características que tornam as sementes mais resistentes ao ataque de fungos, tais como, cascas e tegumentos espessos, conteúdo de polifenólicos, que se constituem em barreiras efetivas contra o ataque de fungos, na maioria das vezes são consideradas agriculturalmente indesejáveis. Por causa desses fatores, a seleção ao longo do tempo pode ter favorecido a baixa resistência das sementes ao ataque de fungos (Halloin, 1983; Berjak, 1987).

Segundo Berjak (1987), durante o desenvolvimento, se não ocorrer extremos de variação ambiental, os fungos causam pequenos efeitos na viabilidade da semente. No entanto, as condições ambientais durante o desenvolvimento e maturação das sementes podem ter efeitos marcantes na sua qualidade. Assim, a ocorrência de chuva durante a fase final do período de maturação e/ou colheita pode ser muito prejudicial, especialmente com relação à proliferação de fungos nas sementes. Para evitar isso, pode ser realizada colheita prematura seguida de secagem artificial. Entretanto, esses procedimentos, se não realizados de forma adequada, também poderão ser prejudiciais. Oliveira (1997), estudando o grau de umidade de sementes de milho na colheita, observou que, quando colhidas em espiga com 28% de umidade e secadas imediatamente, as sementes podem apresentar menor incidência de fungos e melhor qualidade fisiológica em comparação às colhidas a 18% de umidade.

Injúria mecânica é outro fator importante envolvido no estabelecimento de fungos. De acordo com Berjak (1987), as sementes que apresentam danos são rapidamente invadidas por fungos, na maioria das condições de armazenamento empregadas. Assim, sementes danificadas constituem-se em focos, nos quais fungos irão proliferar rapidamente, invadindo sementes sadias. Segundo Berry *et al.* (1990), as sementes danificadas têm menor integridade de membrana, permitindo maior lixiviação de solutos e volatilização de exudatos, o que estimula a colonização por microrganismos. Outro fator a ser considerado, segundo Mycock & Berjak (1995), é que sementes armazenadas por um período prolongado tornam-se debilitadas. À medida que as sementes envelhecem, ocorre ruptura da compartimentação intracelular, como resultado da perda de integridade da membrana, levando ao vazamento de biomoléculas sob condições suficientemente úmidas. Isso pode propiciar uma fonte prontamente disponível de nutrientes adequados para crescimento de fungos.

Parece ser improvável que sementes iniciem o armazenamento livres de propágulos fúngicos, sejam eles internos ou externos aos tecidos das sementes. Se as condições de armazenamento tornarem-se propícias à germinação dos esporos e estabelecimento ou reinício de atividades pelos fungos, uma sucessão de espécies pode utilizar as sementes como fonte de nutrientes. Cada semente infectada pode então ser considerada como um microambiente onde essa sucessão vai ocorrer (Mycock & Berjak, 1995).

Se a semente estiver intacta, as hifas que se desenvolvem como resultado da germinação do esporo, na superfície da semente, tomarão o caminho de menor resistência para o interior da semente. No milho, na maioria das vezes, a infecção ocorre pelo pedúnculo, pelo qual a semente estava originalmente presa. Esse é composto de restos de parênquima e tecido vascular frouxo que parece oferecer pouca resistência. Parece que a taxa de penetração e os padrões de estabelecimento do micélio dentro da semente variam, aparentemente, de acordo com a espécie envolvida, sua capacidade enzimática e exigências de umidade (Berjak, 1987). O tecido específico da semente utilizado e a taxa na qual ele é degradado pelos fungos de armazenamento, também são controlados não apenas pelo grau de umidade da semente e temperatura, mas pela capacidade enzimática extracelular de cada espécie (Christensen & Kaufmann, 1969, 1974; Christensen & Sauer, 1982; McLean *et al.*, 1985; Agarwal & Sinclair, 1987; Mycock & Berjak, 1992a,b). Ainda é possível que algumas das micotoxinas acumuladas durante o armazenamento possam ter efeitos prejudiciais quando as sementes são embebidas (McLean *et al.*, 1992).

Mycock *et al.* (1988) demonstraram microscopicamente que, com três semanas de armazenamento em condições de 90 a 95% de umidade relativa e 25°C, *Aspergillus flavus* var. *columnaris* invadiu a cariopse do milho através de

lesões do pedúnculo, penetrando pela região do escutelo e, com um mês de armazenamento, o eixo embrionário estava completamente invadido.

Mycock *et al.* (1990) observaram que hifas de *A. flavus* var. *columnaris* invadiram os tecidos internos de plântulas de milho em germinação através de lesões nos estômatos e demonstraram que esse fungo persiste em plantas jovens por um período de seis semanas.

Apesar de espécies de *Aspergillus* estarem associadas ao armazenamento de sementes e geralmente serem consideradas saprófitas, vários estudos têm sugerido que certas espécies são hábeis para invadir e infectar plantas em crescimento, como *A. flavus*, em algodão e *A. parasiticus* em amendoim (Mycock *et al.*, 1992), podendo ainda causar enfraquecimento, morte e descoloração do embrião das sementes, bolor, aquecimento, apodrecimento total e combustão do substrato (Dhingra, 1985).

Durante a infecção e colonização, os microrganismos podem utilizar uma variedade de enzimas que atuam na degradação dos componentes da parede celular, de membranas e do tecido de reserva da semente. Podem ainda produzir hormônios e toxinas visando à penetração da hifa infectiva no hospedeiro (Amorim, 1995; Pascholati, 1995). A maioria dos patógenos vive em associação ou dentro dos protoplastos celulares (Agrios, 1988). Esses patógenos obtêm nutrientes do protoplasto, entre eles açúcares e aminoácidos, que são moléculas pequenas, absorvidas diretamente pelo microrganismo. Outros constituintes celulares, como proteínas e ácidos graxos, somente podem ser utilizados após a degradação, que é realizada pelas enzimas secretadas pelo patógeno. O hospedeiro interagindo com o fungo, lança mão de seus mecanismos de defesa. A princípio, ocorrem modificações fisiológicas e bioquímicas por meio da ativação e/ou bloqueio de determinadas atividades celulares, promovendo uma verdadeira

batalha metabólica. Posteriormente, poderão surgir mudanças morfológicas em decorrência de tais alterações (Pascholati, 1995).

Berjak (1987) relatou que em sementes de milho envelhecidas artificialmente, mesmo antes do aparecimento de sinais externos indicando a invasão por espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* já ocorreram reduções no vigor, na germinação e alterações ultraestruturais e ainda ressaltou que características do processo deteriorativo aparecem mais cedo em sementes infectadas do que nas não infectadas.

Os fungos de armazenamento são os mais comuns e destrutivos agentes de deterioração e, de acordo com dados da FAO, aproximadamente 5% dos cereais armazenados no mundo são deteriorados pela ação desses microrganismos (Mycock & Berjak, 1995). Esses fungos compreendem um grupo de microrganismos caracterizados pela habilidade em crescer em tecidos relativamente secos de sementes e embora ocorram outros gêneros, os mais comuns são *Aspergillus* e *Penicillium*. Segundo Wetzell (1987), esses fungos são adaptados a ambientes com umidade relativa do ar entre 60 e 90%, e se desenvolvem numa vasta faixa de temperatura, sendo que o ideal, para sementes amiláceas, está entre 25 a 30°C. Para Bewley & Black (1994), esses microrganismos dificilmente se desenvolvem em sementes em equilíbrio com umidade relativa do ambiente abaixo de 68%. Portanto não seriam responsáveis por deterioração de sementes amiláceas com grau de umidade abaixo de 13%. Já, para Harrington (1972), esses fungos podem crescer ativamente em sementes amiláceas com teor de água acima de 10%. Anderson & Baker (1983) propuseram que 13,5% seria o limite de umidade acima do qual tais sementes seriam afetadas em sua qualidade pelos fungos de armazenamento. Para Mycock & Berjak (1995), entretanto, esses fungos são saprófitas e oportunistas e podem

tornar-se metabolicamente ativos mesmo em sementes com umidade próxima de 13%.

No entanto, segundo Smith & White (1988), a incidência e a severidade dos fungos de armazenamento são dependentes da temperatura do armazém, da umidade da semente, das espécies de fungos presentes, do nível de infecção na pré-colheita e dos danos mecânicos ocorridos. Segundo esses autores, em condições favoráveis de temperatura, o fungo *Aspergillus* sp. pode crescer em sementes com teor de água abaixo de 13,5%, ao passo que *Penicillium* sp., necessita de um grau de umidade acima de 16,5%.

O teor de água da semente é o fator principal, permitindo ou restringindo a proliferação de fungos específicos de armazenamento sendo considerado por vários autores como o principal determinante na sucessão de espécies fúngicas (Welty & Christensen, 1963; Christensen, 1966 citados por Mycock & Berjak, 1995 e Qasem & Christensen, 1958 e 1960; Christensen & Kaufman, 1969 e 1974 e Dhingra, 1985). De acordo com Christensen & Kaufman (1969, 1974), dependendo do teor de água, ocorreu uma sucessão de espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* spp. Assim, a sucessão seria a seguinte: *Aspergillus restrictus* (umidade da semente de 13 - 13,5%); *A. glaucus* (14 - 14,5%); *A. vesicolor* (14,2 - 15%); *A. ochraceus* (15 - 15,5%); *A. candidus* (15 - 15,5%); *A. flavus* ou *A. parasiticus* (17 - 18,5%); *Penicillium* spp. (> 18,5%).

Comparando o efeito de várias espécies de *Aspergillus* na germinação da semente, Mycock & Berjak (1995) concluíram que espécies mais xerotolerantes, tais como, *A. restrictus*, causam menor dano do que aquelas espécies que requerem um teor de água relativamente alto, como *A. flavus*, e que a duração da dominância de espécie é um fator importante para o grau de deterioração da semente. A atividade metabólica das espécies mais xerotolerantes que iniciam a

sucessão aumentam o grau de umidade e temperatura da semente, de modo que os fungos menos xerotolerantes, porém mais agressivos, possam se estabelecer.

Segundo Pereira (1986), os microrganismos mais frequentemente encontrados em sementes de milho são *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp., com destaque para *Fusarium moniliforme*, pela frequência e incidência com que ocorre (Richardson, 1979). Esse fungo está comumente associado ao apodrecimento de sementes de milho (Shurtleff, 1980), podendo interferir na qualidade fisiológica das sementes e prejudicar o estande no campo (Djakamihardja *et al.*, 1970), sendo o tratamento com fungicidas uma das medidas recomendadas para o controle desse patógeno (Goulart & Fialho, 1999).

2.3 Efeitos de microrganismos associados às sementes na qualidade fisiológica

Segundo Berjak (1987), se o fungo tornar-se bem estabelecido durante o armazenamento, a própria semente tornar-se-á debilitada, o que finalmente conduzirá à perda de viabilidade. No entanto, maior atividade fúngica ocorre por ocasião da germinação de sementes infectadas, resultando em plantas menos vigorosas. Assim, mesmo que o fungo não tenha causado dano durante o armazenamento, este pode ter efeito acentuado sobre o vigor da plântula e da planta resultante.

Os principais danos primários causados por fungos às sementes, tanto de campo como de armazenamento, são decréscimo na germinação; descoloração de parte ou de toda a semente; aquecimento e mofo da massa; transformações bioquímicas; produção de toxinas e modificações celulares (Wetzel, 1987).

Christensen & Lopez (1963) observaram perda total do poder germinativo de sementes de milho inoculadas com fungos de armazenamento, enquanto sementes não inoculadas mantiveram a porcentagem de germinação ao longo de 12 meses de armazenamento.

Fusarium moniliforme, em milho, é considerado um fungo de campo e induz podridão do colmo e da espiga, mas pode sobreviver por meio de estruturas de resistência ou micélio dormente no interior das sementes, causando podridão pela destruição do embrião antes da ocorrência da germinação, podendo também causar a morte de plântulas antes e após a emergência (Balmer, 1978; Machado, 2000). Von Pinho (1991) e Carvalho & Silva (1994), encontraram maior porcentagem de germinação de sementes de milho infectadas por *Fusarium moniliforme* no teste de frio, após seis meses de armazenamento convencional do que no início, o que sugere que o fungo pode tornar-se menos agressivo com o tempo ou seu potencial de inóculo tenha sofrido redução durante a armazenagem (Machado, 2000). Oliveira (1997) encontrou resultados semelhantes apenas para armazenamento refrigerado. Para armazenamento convencional foi detectada redução no vigor pelo teste frio após 12 meses. Segundo Balmer (1978), as condições em que é realizado o teste de frio, de alta umidade e baixa temperatura, favorecem o desenvolvimento de *F. moniliforme*.

Cubby & Wallen (1965) relataram redução de 66% na germinação de sementes de milho com incidência de 62% de *Fusarium moniliforme*, em relação a sementes sadias. Por outro lado, vários pesquisadores não encontraram redução na germinação (Bedendo, 1978; Naik *et al.*, 1982; Pinto, 1992), na emergência em campo e produção (Naik *et al.*, 1982) e no vigor pelo teste de frio (Von Pinho *et al.* 1995) causada pela presença do patógeno. Tanaka & Balmer (1980) constataram ocorrência acentuada de tombamento de plântulas de milho provocado por *F. moniliforme* em condições de germinação a baixa temperatura (10 a 20°C).

De acordo com Moreno & Vidal (1981), sementes de milho inoculadas com os fungos *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. candidus* e *Penicillium* sp., armazenadas por 105 dias em ambiente com 85% de umidade relativa e 27°C, tiveram redução

brusca na taxa de germinação. Algumas espécies de *Aspergillus* tiveram sua população reduzida de 10 a 20 vezes na temperatura de 15,6 °C, em relação à temperatura de 32,2°C.

2.4 Alterações celulares associadas à presença de microrganismos em sementes

De acordo com Schmidt (1991), por meio do corte da semente congelada, atacada por fungos, podem-se observar as fases da invasão fúngica, indicando o modo de deterioração. Geralmente, observações microscópicas permitem reconhecer propriedades proteolíticas, pectinolíticas, celulolíticas e sacarolíticas, por meio de alterações estruturais de células e tecidos normais. O dano ao conteúdo celular freqüentemente ocorre sem a presença observável de hifas e parece ser causado principalmente pela secreção de enzimas e outros produtos metabólicos. Quando o fungo que produz determinadas enzimas pára de crescer, essas enzimas ainda podem ser eficazes. É possível também que mais de um organismo esteja envolvido no processo de deterioração, podendo ocorrerem ainda, fenômenos de interferência entre os organismos presentes. Tanto fungos de campo como de armazenamento são capazes de causar deterioração quase total das sementes. Cascas e tegumentos sofrem destruição mais tardiamente, assim a manifestação externa da deterioração dos tecidos mais internos ocorre quando o processo alcança um estágio avançado.

Ainda de acordo com Schmidt (1991), sob o ataque proteolítico de *Aspergillus* e *Penicillium*, os conteúdos celulares das células de aleurona podem perder sua aparência globular. Os glóbulos dissolvem-se formando uma massa homogênea, que em certos casos, mudam de tons incolores para marrons. O surgimento de conteúdos celulares marrons e aglomerados marca a morte da célula, acompanhada por reações químicas de difícil interpretação. A ruptura da

parede celular indica presença de atividades celulolíticas. O ataque de *Aspergillus*, já na fase inicial, causa reações celulares no embrião. Formas e contornos celulares perdem suas características, dissolvem-se a materiais indistintos e mudam também para tons marrons. Conforme a deterioração avança, ocorre degradação do amido dentro do endosperma que começa a partir do centro do grão.

Berjak *et al.* (1986) observaram que mudanças ultraestruturais que caracterizam processos de envelhecimento parecem manifestar-se mais cedo em sementes infectadas. Essas mudanças requerem presença de água, a qual pode ser fornecida pelo próprio metabolismo fúngico. Tais mudanças, conforme sugerem os autores, acontecem na seguinte ordem: fragmentação da parede e granulidade densa localizada; depósitos granulares pequenos associados com gotículas de lipídios; extrusão de lipídio associado com evaginação da plasmalema; invaginação e vesiculação da plasmalema; mudanças de superfície nas gotículas de lipídio periféricas formando o chamado efeito halo; lipídio periférico ou confluências lipídio-vesiculares; fusão de vesículas com organelas; depósitos densos de grãos de amido e ácidos nucléicos associados; modificação do teor vacuolar; confluência em larga escala de lipídios. Apesar de as mudanças aparecerem em ordem bastante diferente da progressão deteriorativa observada em sementes não infectadas, submetidas ao envelhecimento acelerado, nos estádios avançados de deterioração a situação subcelular é semelhante, independente de ser ou não ocasionada por atividade fúngica.

Russell *et al.* (1992), por meio de observações diretas na ultraestrutura de células embrionárias de sementes de milho invadidas por fungos de armazenamento, afirmaram que esses fungos permanecem ativos durante o armazenamento e que sua atividade produz uma seqüência deteriorativa característica nas células hospedeiras diferente daquela encontrada no

envelhecimento de sementes não infectadas. Essa seqüência deteriorativa seria: parede celular fragmentada e depósitos densos associados; vesiculação, invaginação e evaginação da plasmalema; efeito halo de grupamentos lipídicos ao redor da célula; confluência lipídio-vesicular periférica; fusão de vesículas com organelas; depósitos densos de parede celular; grãos de amido e ácidos nucléicos associados; modificação do teor vacuolar; massas de lipídios confluentes permanecendo após a destruição geral da célula.

2.5 Alterações bioquímicas associadas à presença de microrganismos em sementes

Consideráveis mudanças bioquímicas ocorrem em sementes infectadas como resultado das atividades fúngicas. Segundo Fisher *et al.* (1973), os patógenos de plantas possuem habilidade para secretar enzimas líticas capazes de degradar polissacarídeos da parede celular de plantas. Bateman (1974, 1975, 1976) citado por Vieira (1996) estudando a interrelação de fungos de armazenamento em sementes de amendoim, observou que os mecanismos bioquímicos dos organismos saprófitas ou fracamente patogênicos funcionaram eficientemente e sistematicamente para a sobrevivência dos fungos às expensas das sementes. Os sistemas estudados indicaram degradação proteolítica de proteínas de armazenamento para pequenos polipeptídios e aminoácidos livres, hidrólise enzimática de ligações ésteres e decomposição, interação hormonal e/ou oxidação de substratos orgânicos com peróxidos de hidrogênio do fungo. Demonstraram ainda que padrões eletroforéticos de proteínas extraídas das sementes viáveis são distintamente modificados pela infecção de espécies de *Aspergillus* e outros fungos de armazenamento. Isoenzimas associadas com esses processos bioquímicos em sementes infectadas foram também observadas em zimogramas dos extratos de tecidos fúngicos.

A atividade fúngica em sementes pode resultar em mudanças em carboidratos, proteínas, lipídios e vitaminas (Wasowicz, 1991). Farag *et al.* (1985) citado por Wasowicz (1991) relataram que o total de carboidratos em sementes de trigo inoculadas com *Aspergillus flavus* decresceu de 75,50% para 66,65%. Sementes inoculadas com *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* e *Alternaria tenuis* tiveram pequeno decréscimo de carboidratos. O acúmulo de açúcares redutores nas sementes inoculadas de trigo foi três a seis vezes maior do que nas não inoculadas. O aumento de atividade amilolítica foi proporcional às mudanças em carboidratos.

O teor de proteína das sementes de cereais, calculado pela quantidade de nitrogênio é, geralmente, considerado constante durante o armazenamento, mas com o avanço da deterioração fúngica, como os carboidratos são utilizados no processo respiratório, a proporção de proteína, em relação a carboidrato, aumenta (Bothast, 1978 e Farag, 1985, citados por Wasowicz, 1991).

De acordo com Wasowicz (1991), o aumento na população de fungos de sementes armazenadas é acompanhado por um aumento de ácido graxos livres, que é devido, principalmente à atividade de lipase extracelular do fungo. A hidrólise de lipídios parece ocorrer mais rápido do que a degradação de outros componentes da semente. Em virtude disso, o teor de ácidos graxos livres poderia ser utilizado como um indicador para determinar início de deterioração em grãos armazenados (Christensen & Kaufman, 1974). Lesage (1984) citado por Wasowicz (1991) relatou que o crescimento e metabolismo do fungo xerotolerante *Aspergillus chevalieri*, em milho moído com baixa atividade de água, deve-se à presença de lipídios. O autor sugere que lipídios podem representar um substrato disponível nessas condições, por ser líquido e por ser possível a sua hidrólise a muito baixa atividade de água.

Segundo Leite & Pascholati (1995) as alterações nos padrões eletroforéticos, durante o processo de deterioração, podem ser afetadas pela ação de microrganismos associados às sementes. Isso se deve ao fato de que várias enzimas de sementes têm sua produção e/ou atividade alterada em função da presença de microrganismos.

Cordeiro *et al.* (1992) observaram síntese de dois grandes grupos de proteínas chamadas de PR proteínas, de peso molecular de 23 e 24 kDa, em resposta à infecção por *Fusarium moniliforme* em sementes de milho.

Raventos *et al.* (1994), estudando mudanças que ocorrem na síntese de proteína em embriões de milho, infectados por *Fusarium moniliforme*, durante a germinação, observaram a síntese de PR proteínas, de peso molecular de 23 e 24 kDa, bem como a ocorrência de acúmulo destas proteínas em resposta à infecção pelo fungo.

A velocidade de resposta da peroxidase e em menor extensão, polifenol oxidase, enzimas encontradas na infecção de plantas por potencial patógeno fúngico, juntamente com os muitos relatos de correlações positivas entre sua atividade e resistência a doenças (Kedar, 1959; Hislop & Stahmann, 1971, citados por Scandalios (1975), têm conduzido para a hipótese de que essas enzimas podem ser uma parte essencial do mecanismo de defesa de plantas hospedeiras. Porém, em uma análise crítica da questão Seevers & Daly (1970), citados por Scandalios (1975), demonstraram que o aumento em atividade de peroxidase, associada com resistência à ferrugem da haste em trigo, foi uma consequência, mais propriamente, do que um determinante de resistência. Pryor (1966), citado por Scandalios (1975), usando plantas de milho homocigotas para um mutante nulo de polifenol oxidase, demonstrou que a atividade dessa enzima não foi requerida para resistência.

O efeito de doenças fúngicas no metabolismo geral também tem sido extensivamente estudado usando eletroforese de enzimas solúveis. Assim, Scandalios (1975) citou que em cinco estudos representativos envolvendo ataque fúngico em cevada (Sako & Stahmann, 1972), feijão (Staples & Stahmann, 1964) milho (Jennings *et al.*, 1969), amendoim (Cherry *et al.*, 1974) e ervilha (Reddy & Stahmann, 1975) um total de 19 diferentes sistemas isoenzimáticos foi investigado. Desses, malato desidrogenase foi examinada em quatro estudos e fosfatase ácida, glicose-6-fosfato desidrogenase, peroxidase e glutamato desidrogenase em três estudos. Os 13 sistemas isoenzimáticos restantes foram investigados em apenas um ou dois estudos. Os resultados obtidos desses diferentes sistemas hospedeiro-parasita foram variáveis. Bandas da isoenzima malato desidrogenase aumentaram em complexidade; bandas de glicose-6-fosfato desidrogenase e glutamato desidrogenase não foram afetadas; bandas de peroxidase aumentaram em número ou intensidade ou não foram afetadas; enquanto bandas de fosfatase ácida aumentaram ou diminuíram dependendo do sistema hospedeiro parasita investigado.

Muitas enzimas que têm sido estudadas estão envolvidas na rota respiratória (Scott, 1965, citado por Scandalios, 1975). Discute-se que o aumento na atividade dessas enzimas pode ser, ao menos em parte, a base bioquímica para o comumente observado aumento respiratório e atividade metabólica associada com tecido doente (Sako & Stahmann, 1972, citado por Scandalios, 1975).

Cherry *et al.* (1974, 1975 e 1976) verificaram que perfis eletroforéticos de proteínas extraídas de sementes são distintamente modificados pela infecção por certos microrganismos. No estudo da interação entre sementes de amendoim viáveis e *Aspergillus* sp., observou-se pelos resultados que leucina aminopeptidase, esterases, peroxidases, oxidases, catalases, entre outras enzimas, são as responsáveis por essas alterações protéicas nas sementes. Ainda segundo

Cherry *et al.* (1974), muitas enzimas extraídas de sementes de amendoim permanecem ativas durante a invasão por *Aspergillus*, sendo que em algumas circunstâncias a intensificação de atividade foi correlacionada com enzimas extraídas do micélio do fungo coletado da superfície de sementes infectadas.

Cherry *et al.* (1978), em sementes de amendoim infectadas por *A. flavus*, usando proteínas solúveis como indicadores de alterações, observaram decréscimo dessas proteínas em sementes infectadas. Houve decomposição de proteínas de alto peso molecular para produção de polipeptídios de baixo peso molecular, o que foi evidenciado pelo grande número de bandas que se moveram rapidamente nos géis eletroforéticos. Proteínas são hidrolisadas para produzir carbono e nitrogênio para o crescimento fúngico. As proteínas dos tecidos vegetais servem, portanto, como fontes de nutrientes para o desenvolvimento dos fungos durante o processo de infecção (Krupta & Bandstrom, 1974; Zscheile, 1974, citados por Cherry *et al.*, 1978). Entretanto, apesar de os padrões eletroforéticos de proteínas solúveis fornecerem alguma indicação de infestação por fungos, eles não são capazes de indicar a espécie ou gênero do fungo responsável pela deterioração. Pela observação das diferenças nos zimogramas de esterase, leucina aminopeptidase, fosfogluconato, álcool desidrogenase, fosfatase ácida e alcalina, foi possível distinguir sementes infectadas das não infectadas. A enzima fosfatase ácida, que normalmente não está presente em sementes de amendoim, mostrou-se como sendo um bom indicador de degradação fúngica. Enquanto para banapeptidase e catalase não foram observadas diferenças entre extratos de sementes infectadas ou não.

De acordo com Vieira (1996), isoenzimas como fosfatase ácida, catecol oxidase, hexoquinase, enzima málica e esterase tiveram os resultados de seus zimogramas alterados em função da presença de microrganismos em sementes de

algodão. Por sua vez, as isoenzimas glutamato desidrogenase e glutamato-oxalacetato transaminase não sofreram alterações, nas mesmas condições.

Segundo Goodmam & Stuber (1980), tem havido um crescente aumento do número de estudos de isoenzimas envolvidas nos processos respiratórios e degradação de tecidos infectados por microrganismos. Entre essas, em milho, destacam-se álcool desidrogenase, catecol oxidase, peroxidase e esterases.

Brandão Júnior (1996) relatou variações nos perfis eletroforéticos de proteínas e isoenzimas em função do processo deteriorativo de sementes de milho. Os sistemas enzimáticos fosfatase ácida e peroxidase foram eficientes marcadores da deterioração e a enzima sorbitol desidrogenase possibilitou a detecção de estádios iniciais de deterioração. O uso de marcadores bioquímicos permitiu avaliar sensíveis diferenças relacionadas à ação de microrganismos associados ao processo de deterioração das sementes de milho.

Silva (1997), estudando a interferência de microrganismos nos padrões isoenzimáticos de sementes e coleótilos de milho, observou que a infecção de sementes com *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* e *Penicillium spp.* promoveram alterações nos padrões isoenzimáticos das enzimas malato desidrogenase, esterase, fosfatase ácida, peroxidase e glutamato oxalacetato transaminase e *A. flavus* promoveu ainda, sensíveis alterações nos padrões da isoenzima álcool desidrogenase.

Ao lado de enzimas, toxinas constituem uma ferramenta poderosa dos fungos para o seu estabelecimento em tecidos vegetais. Micotoxinas são, portanto, metabólitos secundários tóxicos formados pelos fungos, são moléculas relativamente pequenas e genotipicamente específicas para grupos, espécies ou subespécie de fungos (Golinski, 1991).

De acordo com Abramson (1991), a maior parte dos cereais é susceptível à contaminação por micotoxinas por meio da ação deteriorativa dos fungos

Aspergillus, *Penicillium* e *Fusarium*. As principais toxinas encontradas em sementes de cereais são: aflatoxina, ochratoxina A, citrinina e xantoquinonas, esterigmatocistina, sendo ocasionalmente encontrado o ácido penicílico. Em sementes de milho zearalenona é produzida por *Fusarium* no armazenamento, mas altos níveis dessa toxina estão presentes em sementes de milho recém colhidas e em associação com *Fusarium*. Segundo o autor, várias micotoxinas estão presentes em sementes de cereais danificadas por *Fusarium*, tais como: deoxinivaleno, 3 e 5-acetildeoxisivalenol, nivalenol e fusarenona X. Em milho além da zearalenona, também são encontradas moniliformina, fusarina C, fumosininas e outras micotoxinas como toxina T-2, toxina HT-2 e neosolaniol.

Doehlert *et al.* (1994) detectaram a presença de fumonisina B1, toxina produzida por *Fusarium moniliforme*, durante a germinação de sementes de milho e observaram inibição da elongação da radícula e da produção de amilase e concluíram que a presença dessa toxina pode ter efeitos deletérios na emergência de plântulas.

Brodnik (1975) demonstrou o efeito tóxico de metabólitos de *F. graminearum* e *F. moniliforme* associados a sementes de milho, causando sintomas de anormalidade e redução no crescimento de embriões, resultando na redução da germinação.

Brodnik *et al.* (1978) estudaram o efeito de metabólitos de sementes de milho infectadas por *A. flavus*, *P. rubrum* e *F. graminearum*, comparando-o com o efeito das micotoxinas puras aflatoxina B1, rubratoxina A e toxina F-2, respectivamente, aplicadas em embrião de semente não infectada, durante o crescimento. Foi observado que o efeito de substâncias tóxicas de sementes infectadas foi mais acentuado na redução do crescimento de embriões, do que o de aflatoxina B1 e rubratoxina A puras. Por outro lado, a toxina F-2 propiciou um pequeno estímulo ao crescimento de embriões.

A aflatoxina é um metabólito tóxico, carcinogênico e mutagênico produzido principalmente pelo fungo *A. flavus*. Para prevenir a produção de aflatoxina é necessário o controle do crescimento do fungo. As espécies de *Aspergillus* são conhecidas por sua habilidade em produzir micotoxinas em sementes de algumas culturas, tais como milho, amendoim e algodão, etc. (Ross *et al.*, 1979; Sinha & Sinha, 1992). Aflatoxina e esterigmatocistina, produtos finais de algumas rotas biossintéticas, são as mais comuns micotoxinas de *Aspergillus* spp. As espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* produzem principalmente aflatoxina, enquanto esterigmatocistina é produzida por várias espécies de *Aspergillus* incluindo *A. nidulans* e *A. vesicolor* (Keller *et al.* 1994). Segundo os autores, maior concentração de precursores e de micotoxinas acontece durante a germinação de sementes de milho inoculadas com *Aspergillus* spp. e, maior crescimento fúngico ocorre a partir de tecidos embrionários e camada de aleurona em direção ao endosperma.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes e no Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG.

Foram utilizadas sementes de milho da safra 1996/1997, dos híbridos Ag-122, um híbrido duplo, precoce (864UC), porte médio, de grão semidentado amarelo, peneira 24, produzidas pela Empresa de Sementes Agroceres e C-901, um híbrido simples superprecoce (790UC), porte baixo de grão semidentado amarelo, peneira 20, produzidas pela Cargill.

3.1 Caracterização inicial da qualidade das sementes

3.1.1 Umidade

A determinação do grau de umidade foi efetuada pelo método da estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, com duas repetições para cada híbrido, de acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes (RAS)(Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem (Tabela 1).

TABELA 1 Valores médios, em percentuais, de primeira contagem (PC), germinação (G), infestação (I), umidade (U) e danos mecânicos, efetuados para caracterização inicial da qualidade das sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Híbrido	PC (%)	G (%)	I (%)	U (%)	Sementes com dano mecânico (%)			
					Grave	Médio	Leve	Total
AG-122	96	95	2,0	11,2	3,0	8,3	2,5	13,8
C-901	96	96	2,0	10,5	7,8	33,5	12,5	53,8

3.1.2 Danos mecânicos

A identificação de sementes danificadas foi efetuada pelo método de imersão em solução de *Amaranthus* a 0,1%. Foram imersas quatro repetições de 100 sementes, durante dois minutos e em seguida lavadas em água corrente. A avaliação foi baseada na presença e grau de danos, em função do desenvolvimento de áreas coloridas, bem como do local e extensão dessas áreas. Os danos foram classificados em graves, médios e leves, segundo a recomendação de Vieira *et al.* (1999), e os resultados expressos em porcentagem de sementes danificadas (Tabela 1).

3.1.3 Exame de sementes infestadas

Efetuada em duas repetições de 100 sementes. As sementes foram imersas em água por 24 horas. Posteriormente foi efetuado o exame de sementes individuais, por meio de corte longitudinal. Foi observada a presença de inseto adulto, pupa, lagarta, larva, ovo ou orifício provocado pelo inseto, de acordo com recomendação das RAS (Brasil, 1992) e os resultados foram expressos em porcentagem (Tabela 1).

3.1.4 Primeira contagem e germinação

Os testes foram realizados com quatro repetições de 50 sementes, semeadas no sistema de rolo de papel umedecido com 2,5 vezes o peso do papel em água e mantidas em germinador a temperatura constante de 25°C. As avaliações foram conduzidas de acordo com os critérios estabelecidos pelas RAS (Brasil, 1992). A primeira contagem e a de germinação foram realizadas, respectivamente, no quarto e no sétimo dia após a instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem (Tabela 1).

3.1.5 Teste de sanidade

O teste de sanidade foi efetuado pelo método do papel de filtro com congelamento, de acordo com Neergaard (1977), em oito repetições de 25 sementes. Parte das sementes (quatro repetições) foi submetida à desinfestação superficial por meio de imersão em hipoclorito de sódio a 2% por um minuto. As sementes foram acondicionadas em placas de Petri com 15 cm de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro previamente umedecidas em água destilada e esterilizada. Em seguida, procedeu-se à incubação a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, em regime de alternância de luz negra e escuro em ciclos de 12 horas. Após as primeiras 24 horas de incubação, as sementes foram mantidas à temperatura de -18 a -20°C por 24 horas e posteriormente colocadas no ambiente de incubação ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) até completar sete dias. Ao final do período de incubação as sementes foram observadas individualmente em microscópio esterioscópico para identificação dos patógenos. Quando necessário foram feitas lâminas das estruturas dos fungos e utilizado o microscópio composto. Os resultados, expressos em porcentagem de incidência de cada fungo nas sementes, estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 Incidência inicial de fungos nas sementes de milho dos híbridos de milho Ag-122 e C-901, utilizadas no experimento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Ag-122		C-901	
	Sem Desinfestação (%)	Com Desinfestação (%)	Sem Desinfestação (%)	Com Desinfestação (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	2,6	0,6	2,6	2,5
<i>Penicillium</i> sp.	97,1	20,0	98,6	18,5
<i>Fusarium</i> sp.	66,8	61,6	81,3	39,7
<i>A. glaucus</i>	0,4	3,0	0,0	0,5
<i>A. niger</i>	0,3	0,4	3,0	0,4

3.2 Preparo do inóculo e instalação do ensaio

Os fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp. e *Fusarium moniliforme*, utilizados para inoculação das sementes, foram isolados de sementes de milho submetidas ao teste de sanidade pelo método do papel de filtro. Esses fungos foram transferidos assepticamente para meio BDA e incubados à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, com regime de alternância de luz negra e escuro em ciclos de 12 horas por sete dias. Em seguida foi feita repicagem da cultura pura em 10 placas de Petri de 9cm de diâmetro, para cada um dos fungos, com incubação nas mesmas condições. Posteriormente, foi feita uma suspensão de esporos de cada fungo, acrescentando 10 ml de água destilada e esterilizada e 50 ppm de TWEEN 80 por placa. Com o auxílio de um pincel, os esporos foram liberados das colônias. Foi preparado um meio BDA (batata, dextrose e agar) com agar na concentração de 0,5% (5g/l), que foi autoclavado e ao qual, ao atingir uma temperatura de $\pm 50^\circ\text{C}$, foi acrescentada a suspensão de esporos (5%). Depois de efetuada a homogeneização desse meio, três discos de papel de filtro de 15cm de diâmetro, previamente esterilizados, foram mergulhados nessa suspensão de esporos agarizada e colocados em placas de Petri do mesmo diâmetro. Essas foram, então, colocadas em câmara à 25°C e luz alternada 12/12h., em câmara BOD, por um período aproximado de 20 dias, até à desidratação do papel. Em seguida, a esse substrato, contendo colônias dos fungos esporuladas, adicionaram-se 2g de Caolim (material inerte de granulometria fina), previamente esterilizado, por placa, obtendo-se assim, com o auxílio de um pincel, o pó com propágulos de cada fungo.

A concentração de esporos no pó foi determinada com o auxílio de uma câmara de Neubauer e ajustada, por meio de diluições, para 10×10^6 esporos/g de produto e a incorporação do inóculo de cada fungo nas sementes foi realizada

na base de 200g do inóculo formulado por 100kg de sementes. As sementes dos dois híbridos foram submetidas aos seguintes tratamentos: (1) controle sem nenhum tratamento e sem incubação; (2) testemunha sem tratamento, com incubação (BOD a 25°C e $\pm 95\%$ de umidade relativa por sete dias); (3) tratamento com fungicida thiabendazole na dosagem de 20g i.a./100kg de sementes e incubação; (4) inoculação com *Aspergillus flavus* e incubação; (5) inoculação com *Penicillium* sp. e incubação; (6) inoculação com *Fusarium moniliforme* e incubação. Cada tratamento foi realizado com quatro repetições.

3.3 Avaliações

Os tratamentos foram avaliados utilizando-se os seguintes testes:

3.3.1 Primeira contagem e germinação

Os testes de primeira contagem e germinação foram efetuados como descrito no item 3.1.4, porém, com apenas duas repetições de 50 sementes.

3.3.2 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com duas repetições de 50 sementes, semeadas em caixas plásticas (60x30x10cm) contendo uma mistura de areia e solo proveniente de área cultivada com milho, na proporção de 2:1. Nessa mistura, foi adicionada água até atingir 60% da capacidade de campo do substrato. Em seguida, as caixas foram vedadas e levadas a uma câmara previamente regulada a 10°C, onde permaneceram por sete dias, quando então, foram transferidas para câmara de crescimento previamente regulada à temperatura de 25°C, permanecendo nessas condições por mais sete dias. Posteriormente foi feita a contagem do número de plântulas emergidas e o resultado foi expresso em porcentagem.

3.3.3 Teste de tetrazólio (viabilidade e vigor)

As sementes foram pré-condicionadas em água por 16 horas a 25°C. Após esse período, foram seccionadas longitudinalmente e imersas em solução de 2,3,5 cloreto de trifênil tetrazólio a 0,075%, permanecendo nessa solução por um período de quatro horas a 25°C, em ambiente escuro. Em seguida, foram lavadas em água corrente e submetidas à avaliação em microscópio estereoscópico, quando foram atribuídas notas de um a oito às sementes individualmente. Foram atribuídas notas de 1 a 8, segundo critérios recomendados por Moore (1985), nos quais os valores de 1 a 3 foram atribuídos a sementes vigorosas, de 1 a 5 a sementes viáveis e acima de 5 a sementes inviáveis.

3.3.4 Teste de condutividade elétrica

Efetuada com quatro repetições de 25 sementes, que foram pesadas em balança com precisão de 0,01g e colocadas em copos plásticos contendo 75 ml de água deionizada e mantidas em ambiente com temperatura constante de 25°C por 24 horas, quando então, foram efetuadas as leituras de condutividade elétrica da solução, em condutímetro marca Digimed modelo CD 21A. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$ de sementes.

3.3.5 Emergência em canteiro

Realizado em canteiro contendo mistura de areia e terra na proporção de 1:1, previamente desinfestada com brometo de metila. Foram semeadas manualmente, duas repetições de 50 sementes por tratamento, em linhas de um metro de comprimento a uma profundidade de três centímetros. Foram efetuadas regas diárias e foi computado o número de plântulas emergidas que se apresentavam com mais de dois centímetros aos 21 dias. Os resultados foram expressos em porcentagem.



3.3.6 Índice de velocidade de emergência (IVE)

No teste de emergência em canteiro, foi contado o número de plântulas emergidas, com mais de dois centímetros, diariamente, até a completa estabilização do estande. O índice de velocidade de emergência foi calculado de acordo com Maguire (1962).

3.3.7 Teste de sanidade

Efetuada como descrito no item 3.1.5, porém em quatro repetições de 25 sementes e sem desinfestação superficial.


3.3.8 Análise eletroforética de isoenzimas

Foram trituradas 100 sementes de cada tratamento, em moinho refrigerado. O pó obtido das sementes foi armazenado a -80°C até a extração.

Os fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp. e *Fusarium moniliforme*, foram isolados das sementes inoculadas por ocasião do teste de sanidade. Esses foram transferidos assepticamente para meio BDA e incubados em temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, com regime de alternância de luz negra e escuro em ciclos de 12 horas por sete dias. Após esse período, dois discos de meio de cultura contendo micélio de fungo foram transferidos para meio líquido sob agitação (Millis *et al.* 1992). Foram efetuadas curvas de crescimento dos fungos, de acordo com a descrição de Alfenas *et al.* (1991).

Após o período de incubação, que se deu a 25°C e luz alternada, o micélio foi coletado a vácuo, liofilizado e macerado em nitrogênio líquido. O pó micelial obtido foi armazenado a -80°C .

A extração de isoenzimas foi efetuada adicionando a 100 mg do pó da semente ou 15 mg do pó micelial 200 μl do tampão de extração (0,2M Tris, 0,1% β mercaptoetanol, 0,4% PVP, 0,4% PEG, 1 mM EDTA, pH 8,0). O



homogeneizado foi incubado em gelo por 24 horas e centrifugado a 14000 xg a 4°C por 60 minutos. Posteriormente 20 µl do sobrenadante de cada tratamento foram aplicados nos géis de poliacrilamida a 4,5% (gel concentrador) e 7,5% (gel separador). As corridas eletroforéticas foram efetuadas a 12 mA no gel concentrador e 24 mA no gel separador. Após as corridas os géis foram revelados para os sistemas isoenzimáticos: isoenzima fosfatase ácida (ACP), álcool desidrogenase (ADH), esterase (EST), glutamato-oxalacetato transaminase (GOT), malato desidrogenase (MDH), peroxidase (PO), catalase (CAT), sorbitol desidrogenase (SDA), conforme a metodologia descrita por Alfenas *et al.* (1991).

3.3.9 Análise de ultraestrutura

A análise de ultraestrutura foi efetuada pelo procedimento de microscopia eletrônica de varredura de baixa temperatura, na Universidade de Wageningen, na Holanda. As sementes foram submetidas à embebição em água destilada por 12 horas a 25°C, em seguida foram afixadas em um aparato de metal com um meio para congelamento de tecidos (Tissue freezing medium, Electron Microscopy Science), pó de carvão e cola. Os aparatos com as sementes foram resfriados em nitrogênio líquido (-196°C) para evitar rachaduras nas sementes. O corte para exposição das estruturas das sementes foi realizado com o equipamento Polycut (Reichert Jung, Áustria) com lâmina redonda de diamante. O estágio de cryopreparação foi efetuado em CT 1500 HF, Oxford Instruments, Oxon, UK e a temperatura foi elevada para -90°C a 10⁻⁶ torr para sublimação do vapor de água. Após cobertura de 5 nm de platina, as sementes foram examinadas a -193°C, em microscópio eletrônico de varredura à baixa temperatura (LTSEM-JSM 6300F, JEOL, Japão).

3.4 Procedimento estatístico

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (6x2), seis tratamentos (controle, testemunha incubada, tratamento fungicida, inoculação com *Aspergillus flavus*, com *Penicillium* sp. e com *Fusarium moniliforme*) e dois híbridos, com quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância. A comparação entre médias foi efetuada pelo teste de Tukey ao nível de 95% e 99% de significância. Dados de incidência de fungos (x), em porcentagem, foram transformados em raiz quadrada de x e analisados estatisticamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados da análise de variância (Tabela 1 A), constataram-se diferenças significativas entre híbridos e entre os tratamentos, pelos testes de tetrazólio e também pelos demais testes determinantes da qualidade, exceto entre tratamentos, pelo teste de condutividade elétrica. A interação tratamentos e híbridos não foi significativa, pelos resultados dos testes de tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor, testes de frio e condutividade elétrica, mas foi altamente significativa ($P < 0,01$), pelos de germinação, emergência em canteiro e IVE.

Pelos resultados da análise de variância (Tabela 2 A) referentes à incidência dos fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *A. flavus* e total, nas sementes milho, observaram-se diferenças significativas entre os híbridos e entre os tratamentos. A interação entre tratamentos e híbridos foi altamente significativa ($P < 0,01$), para *Penicillium* sp. e significativa ($P < 0,05$), para *Fusarium* sp. e total. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Hoernisch e Davis (1994) e Jones & Clifford (1983), citados por Mycock & Berjak (1995) que afirmaram que as cultivares podem reagir de forma diferente à contaminação fúngica nas sementes, por várias razões, como o nível de fenólicos, a espessura do tegumento e o revestimento ceroso, que pode variar entre as cultivares, afetando o processo de infecção.

Observou-se, pelos dados contidos na Tabela 3, para os testes de tetrazólio, que as sementes do híbrido C-901 apresentaram qualidade fisiológica superior às do híbrido Ag-122. Esses resultados foram confirmados pelos demais testes determinantes da qualidade, à exceção do teste de condutividade elétrica. Provavelmente, o menor vigor das sementes do híbrido C-901, detectado pelo

teste de condutividade elétrica tenha sido em função da condição física das sementes desse híbrido, que apresentaram alto grau de danificação mecânica, ou seja, enquanto esse híbrido apresentou 53,8% de sementes danificadas, o Ag-122 teve apenas 13,8% de danificação. Esses resultados estão de acordo com relatos de Berry *et al.* (1990), segundo o qual, sementes danificadas apresentam menor integridade de membrana, permitindo maior lixiviação de solutos.

TABELA 3 Valores médios de tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), de frio (TF) e condutividade elétrica (CE) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Tratamentos	Tz-va (%)	Tz-vg (%)	TF (%)	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$)
1 - Controle	95 a	88 a	29 ab	16 a
2 - Test. incubada	95 a	88 a	34 a	17 a
3 - Fungicida	95 a	86 ab	29 ab	15 a
4 - <i>Aspergillus flavus</i>	92 ab	82 ab	22 b	16 a
5 - <i>Penicillium sp.</i>	88 b	80 b	24 b	16 a
6 - <i>F. moniliforme</i>	96 a	86 a	24 b	17 a
Híbridos	Tz-va (%)	Tz-vg (%)	TF (%)	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$)
Ag-122	91 b	80 b	17 b	14 b
C-901	96 a	90 a	37 a	18 a

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

A exemplo dos demais testes determinantes da qualidade fisiológica, os testes de tetrazólio (viabilidade e vigor) detectaram que sementes inoculadas com *Penicillium* sp., independente do híbrido, foram as que apresentaram qualidade fisiológica significativamente inferior (Tabelas 3 e 4). No entanto, comparando-se os resultados dos testes de tetrazólio-viabilidade e vigor, germinação e emergência (Tabela 1 A.), observou-se que enquanto os de tetrazólio não detectaram interação significativa entre híbridos e tratamentos, os de germinação e emergência detectaram essa interação.

TABELA 4 Valores médios de germinação (G), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Variável	Tratamentos	Híbridos	
		Ag-122	C-901
G (%)	1 - Controle	96 Aa	96 Aa
	2 -Test. incubada	93 Aa	93 Aab
	3 - Fungicida	93 Aa	93 Aab
	4 - <i>Aspergillus flavus</i>	84 Bb	89 Abc
	5 - <i>Penicillium</i> sp.	77 Bc	86 Ac
	6 - <i>F. moniliforme</i>	91 Aa	91 Aabc
E (%)	1 - Controle	96 Aa	96 Aa
	2 -Test. incubada	90 Aa	93 Aab
	3 - Fungicida	94 Aa	93 Aab
	4 - <i>Aspergillus flavus</i>	82 Bb	92 Aab
	5 - <i>Penicillium</i> sp.	80 Bb	89 Ab
	6 - <i>F. moniliforme</i>	92 Aa	92 Aab
IVE	1 - Controle	21 Aa	20 Aa
	2 -Test. incubada	19 Abc	19 Aab
	3 - Fungicida	20 Aab	19 Aab
	4 - <i>Aspergillus flavus</i>	17 Bcd	19 Aab
	5 - <i>Penicillium</i> sp.	17 Bd	18 Ab
	6 - <i>F. moniliforme</i>	19 Aab	19 Aab

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na vertical e maiúscula, na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelo teste de tetrazólio (Tabela 3), o único tratamento que propiciou qualidade fisiológica significativamente inferior das sementes foi o de inoculação com *Penicillium* sp., independente do híbrido. A inoculação com *Aspergillus flavus* apresentou tendência de inferioridade em relação aos tratamentos controle, testemunha incubada, tratamento fungicida e inoculada com *F. moniliforme*. Apesar de os testes de germinação, emergência em canteiro e IVE (Tabela 4) terem detectado, de forma semelhante aos testes de tetrazólio (Tabela 3), prejuízo à qualidade fisiológica em função dos tratamentos a que as sementes foram submetidas, eles também detectaram que essa perda na qualidade varia, em função do híbrido. Assim é que esses testes detectaram que sementes do híbrido Ag-122, submetidas aos tratamentos controle, testemunha incubada, tratamento fungicida e inoculada com *F. moniliforme* (Tabela 4), apresentaram-se com qualidade fisiológica significativamente superior as inoculadas com *Aspergillus flavus* e estas, por sua vez, significativamente superior às inoculadas com *Penicillium* sp. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Moreno & Vidal (1981). Apesar de as sementes do híbrido C-901, inoculadas com *Penicillium* sp., terem apresentado tendência de qualidade fisiológica inferior àquelas submetidas aos demais tratamentos, estas tiveram sua germinação significativamente menos afetada pela ação desses organismos que as do híbrido Ag-122. Resultados semelhantes foram detectados pelos demais testes. Esses resultados confirmaram relatos de Christensen & Lopez (1963) sobre a influência prejudicial dos fungos de armazenamento, quando inoculados em sementes de milho, sobre o poder germinativo das sementes. O tratamento de inoculação com *Penicillium* sp. apresentou-se ainda mais agressivo do que com *A. flavus*, causando maiores danos. Provavelmente isso tenha ocorrido em função das condições de inoculação, as quais podem ter favorecido a ação e conseqüentemente a penetração desse organismo na semente. Os resultados da

análise ultraestrutural revelaram que as estruturas do referido organismo estavam presentes no embrião (Figura 1, C e F), ao passo que as de *A. flavus* se encontravam próximas ao embrião (Figura 2, A e B) e estruturas de *F. moniliforme* dificilmente puderam ser visualizadas (Figura 3). Pelos resultados da atividade da enzima fosfatase ácida (Figura 4), observa-se maior atividade da banda 1, presente no extrato protéico do fungo *Penicillium* sp., nos tratamento de sementes inoculadas com esse organismo (A5 e C5). Isso vem reforçar dados de Christensen & Kaufman (1969, 1974) e Mycock & Berjak (1995) que relataram que espécies mais xerotolerantes causam menor dano do que aquelas espécies que requerem um teor de água relativamente alto. Nesse caso, *A. flavus* é menos exigente em teor de água do que *Penicillium* sp. Entretanto, não foi possível observar modificações na atividade das enzimas álcool desidrogenase (Figura 4) esterase e glutamato oxalacetato transminase (Figura 5), malato desidrogenase e peroxidase (Figura 6) catalase e sorbitol desidrogenase (Figura 7), pela ação desses organismos. Esses resultados discordaram de relatos de Schmidt (1991).

Outro fato interessante é que, nas sementes do híbrido Ag-122 (Tabela 4), os testes de germinação e emergência não detectaram diferenças significativas entre os tratamentos controle, testemunha incubada, fungicida e *F. moniliforme*. Esses resultados diferiram dos de Cubby & Wallen (1965), que encontraram redução na germinação de sementes de milho infectadas por *F. moniliforme* em comparação a sementes sadias, mas estão de acordo com os de Bedendo (1978); Naik *et al.* (1982) e Pinto (1992), que não encontraram redução na germinação e de Naik *et al.* (1982), que não encontraram redução na emergência, causada pela presença do referido patógeno em sementes de milho.

Apesar de o tratamento de inoculação com *F. moniliforme* não ter causado danos à qualidade fisiológica das sementes, isso não significa que esse organismo não seja prejudicial. Provavelmente, esses danos à qualidade das

sementes não tenham ocorrido quando da inoculação dessas por esse organismo, em função de fatores que influenciaram a relação patógeno/hospedeiro. Como pode ser visto na Figura 3, não foi possível visualizar estruturas do referido patógeno nos tecidos internos de sementes inoculadas com esse organismo, o que sugere que algum mecanismo nessa relação desfavoreceu a penetração de *Fusarium*. Por outro lado, *A. flavus* e *Penicillium* sp, que foram detectados pela maioria dos testes, como responsáveis pelos danos à qualidade fisiológica das sementes, têm suas estruturas claramente observadas invadindo os tecidos internos das sementes (Figuras 1 e 2). Esses resultados foram semelhantes aos de Mycock *et al.* (1988), que demonstraram microscopicamente que, com três semanas de armazenamento em condições de 90 a 95% de umidade relativa e 25°C, *Aspergillus flavus* invadiu a cariópse do milho, através de lesões do pedúnculo, penetrando pela região do escutelo e, com um mês de armazenamento, o eixo embrionário estava completamente invadido.

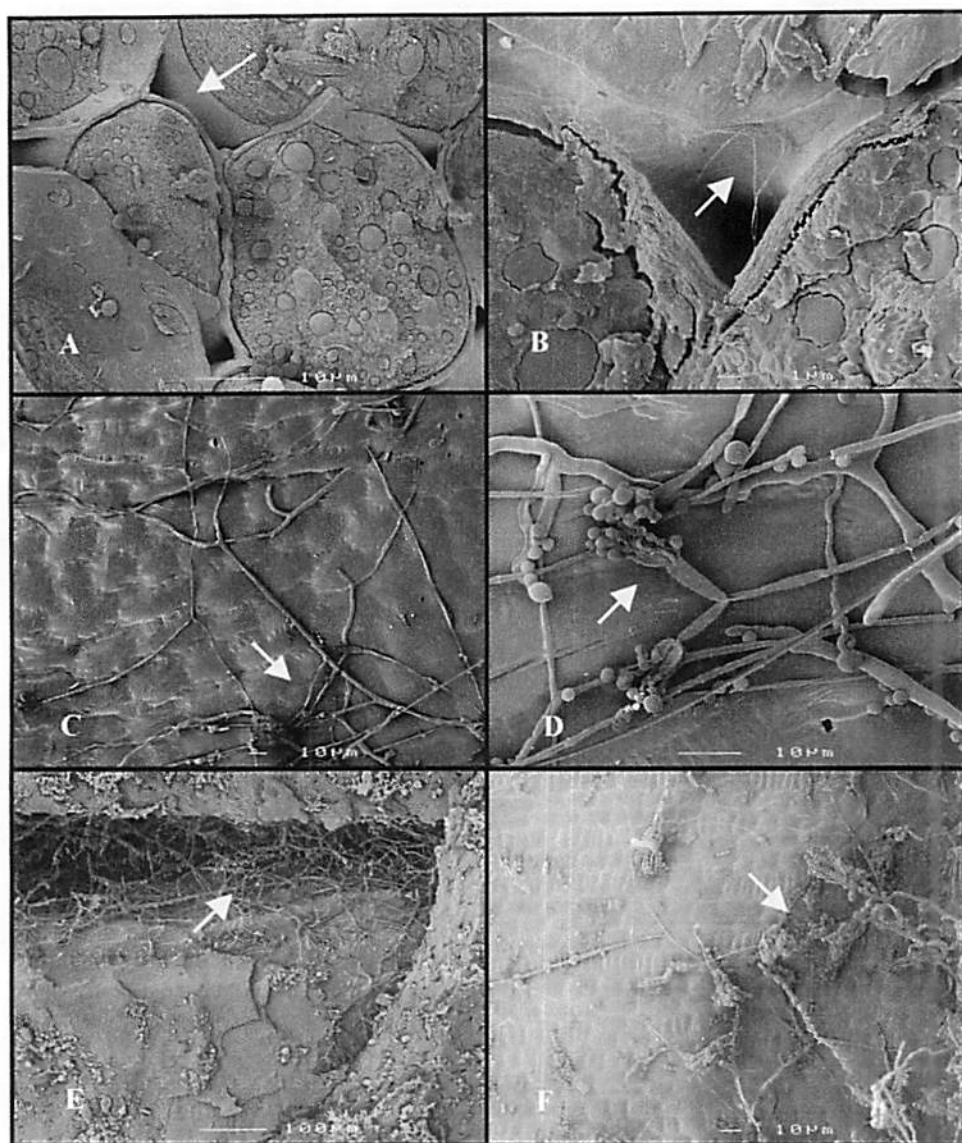


FIGURA 1 Ultraestrutura de partes de sementes de milho inoculadas com *Penicillium* sp. A- Hifas perfurando parede celular (1400x); B- Hifas em espaço intercelular; C- Hifas no embrião (400x); D- Estrutura do fungo entre coleorriza e endosperma (1500x); E - Estrutura do fungo; F- Estrutura da plúmula com hifas (500x). Wageningen-Holanda, 2001.

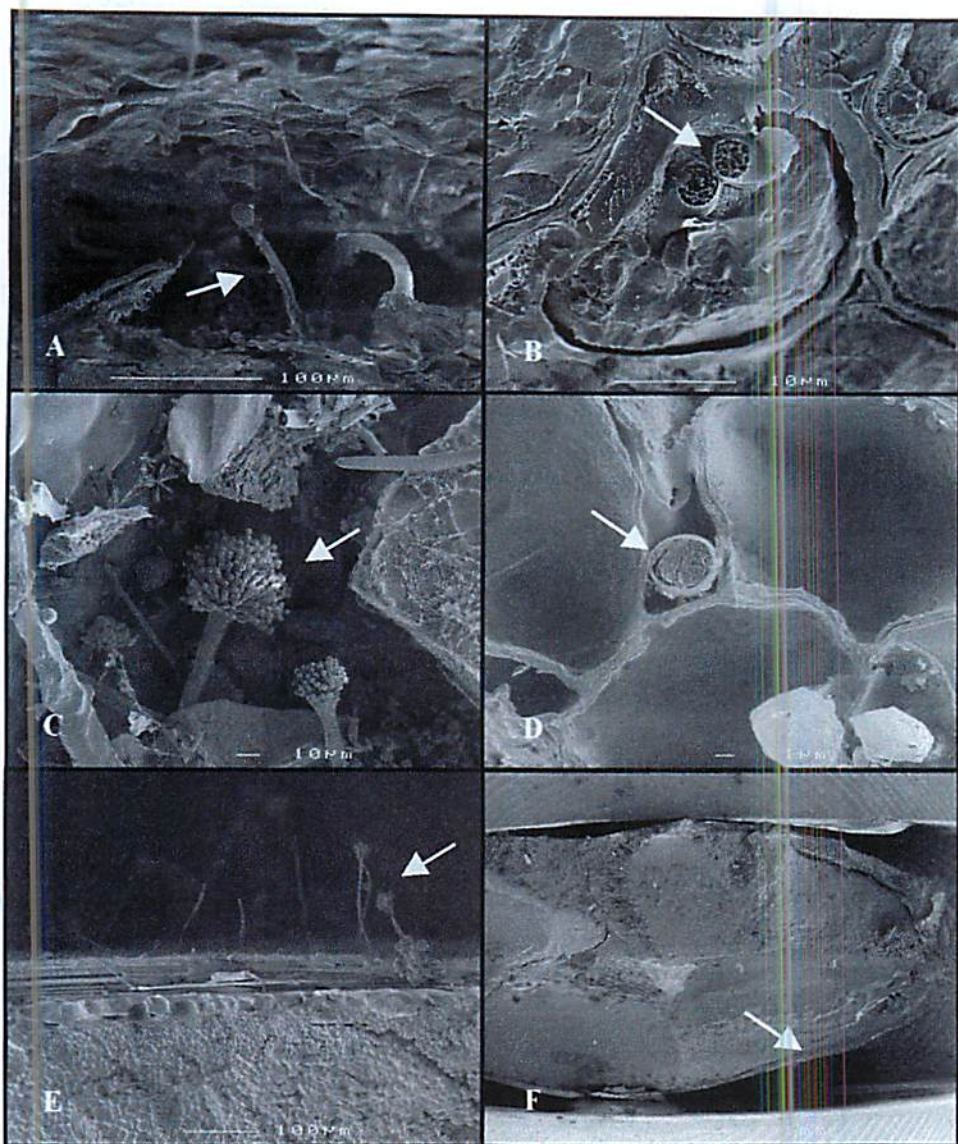


FIGURA 2 Ultraestrutura de partes de sementes de milho inoculadas com *Aspergillus flavus*. A- Fungo em desenvolvimento entre pericarpo e embrião (3700x); B- Detalhe de hifas crescendo dentro da célula (3000x); C- Estruturas do fungo crescendo em semente inteira (1200x); D- Hifa saindo do tecido do pedicelo (4.500x); E- Camada de aleurona com crescimento de fungo (180x); F- Hifas saindo do pericarpo (180x). Wageningen-Holanda, 2001.

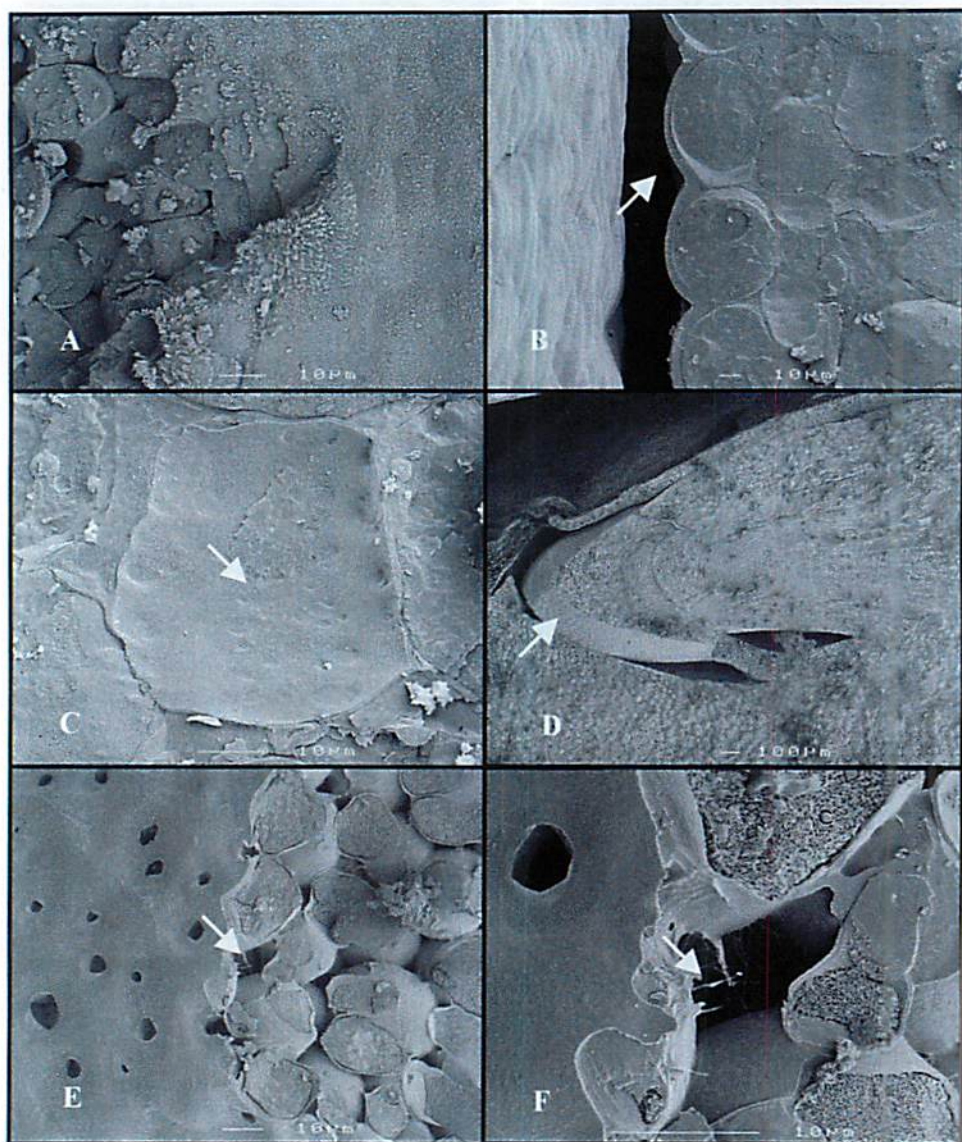
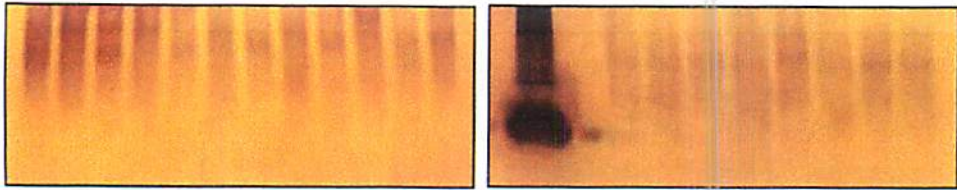


FIGURA 3 Ultraestrutura de partes de sementes de milho inoculadas com *Fusarium moniliforme*. A- Plúmula; B- Espaço entre plúmula e endosperma (500x); C- Parede celular limpa; D- Radícula e escutelo; E- Hifas saindo da superfície da coleorriza (1000x); F- Hifas saindo da superfície da coleorriza (3500x). Wageningen-Holanda, 2001.

ACP



A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4 A5 C5 A6 C6

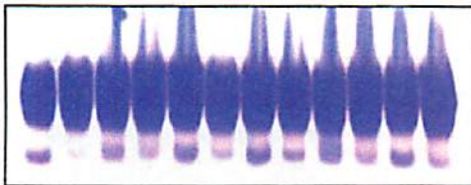
Asp. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4



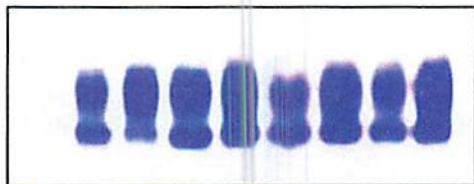
Pen. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A5 C5

Fus. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A6 C6

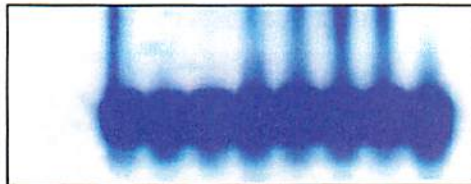
ADH



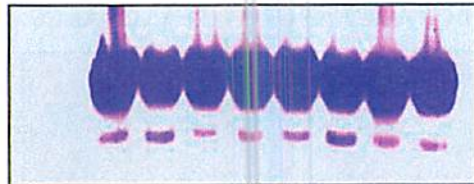
A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4 A5 C5 A6 C6



Asp. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4



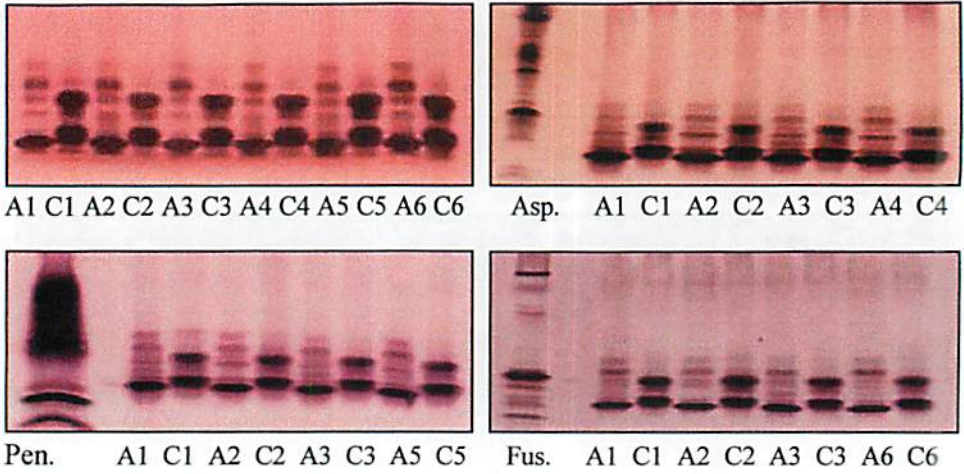
Pen. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A5 C5



Fus. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A6 C6

FIGURA 4 Padrões eletroforéticos da isoenzima fosfatase ácida (ACP) e álcool desidrogenase (ADH) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 (A) e C-901 (C) dos tratamentos: controle (1), testemunha incubada (2), tratadas com fungicida (3), inoculadas com *Aspergillus flavus* (4), *Penicillium* (5) e *Fusarium moniliforme* (6) e de micélio dos respectivos fungos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

EST



GOT

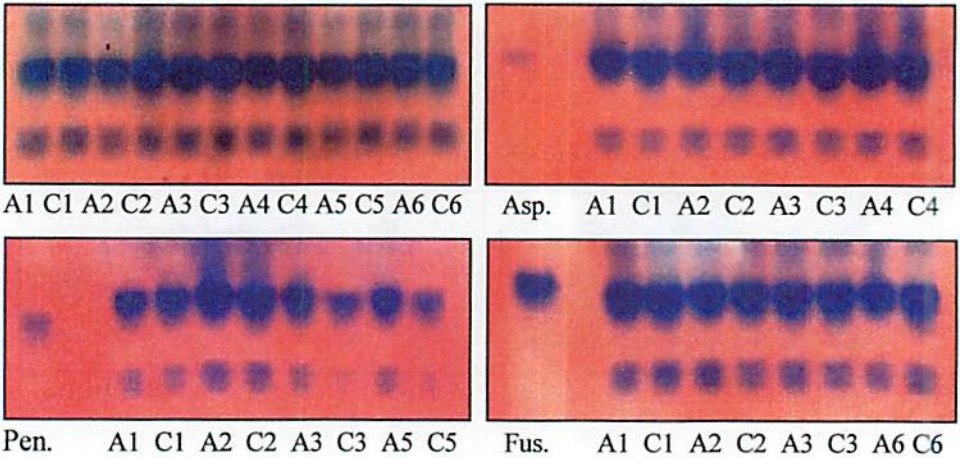
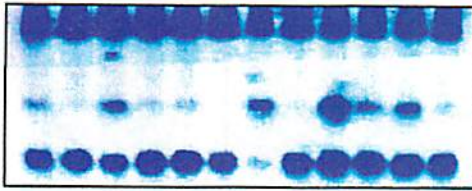
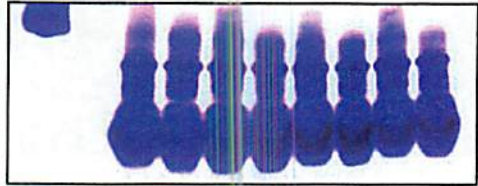


FIGURA 5 Padrões eletroforéticos da isoenzima esterase (EST) e glutamato-oxalacetato transaminase (GOT) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 (A) e C-901 (C) dos tratamentos: controle (1), testemunha incubada (2), tratadas com fungicida (3), inoculadas com *Aspergillus flavus* (4), *Penicillium* (5) e *Fusarium moniliforme* (6) e de micélio dos respectivos fungos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

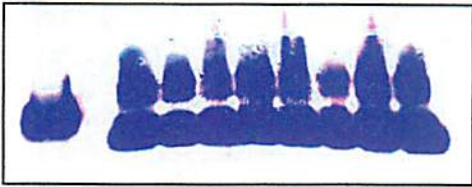
MDH



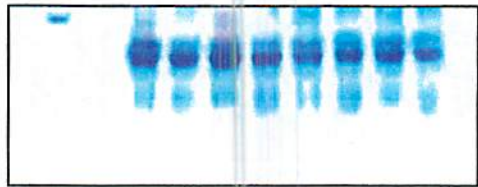
A1C1A2 C2 A3 C3 A4 C4 A5 C5 A6 C6



Asp. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4

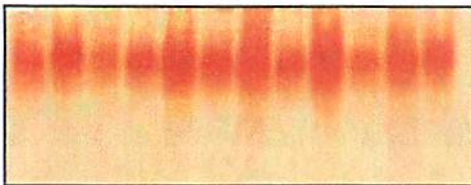


Pen. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A5 C5

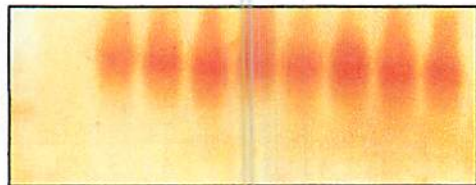


Fus. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A6 C6

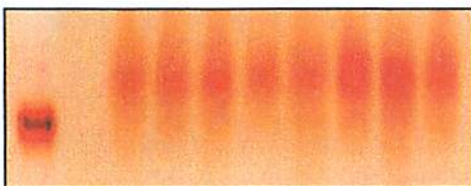
PO



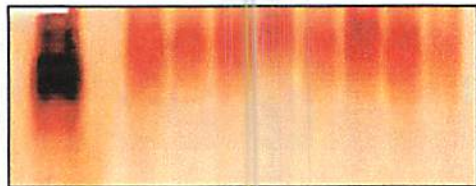
A1C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4 A5 C5 A6 C6



Asp. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4



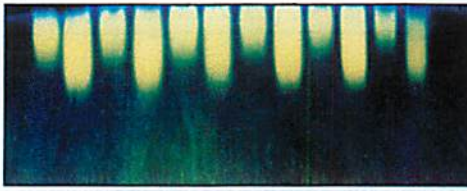
Pen. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A5 C5



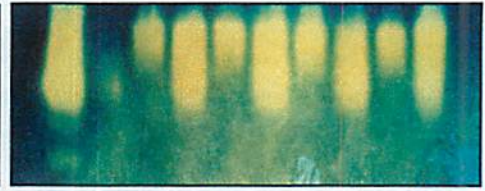
Fus. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A6 C6

FIGURA 6 Padrões eletroforéticos da isoenzima malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PO) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 (A) e C-901 (C) dos tratamentos: controle (1), testemunha incubada (2), tratadas com fungicida (3), inoculadas com *Aspergillus flavus* (4), *Penicillium* (5) e *Fusarium moniliforme* (6) e de micélio dos respectivos fungos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

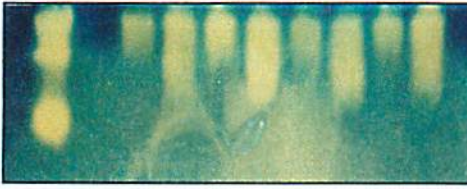
CAT



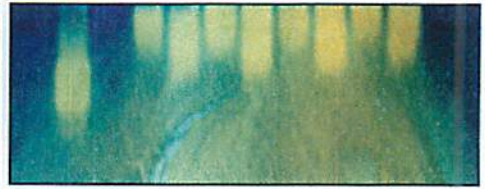
A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4 A5 C5 A6 C6



Asp. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4

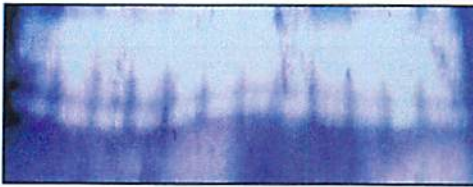


Pen. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A5 C5

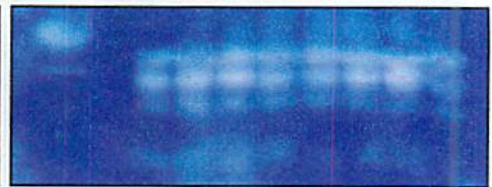


Fus. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A6 C6

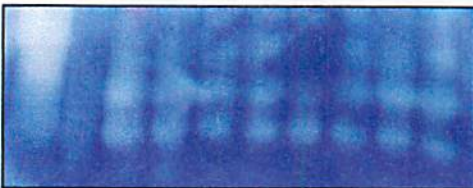
SDA



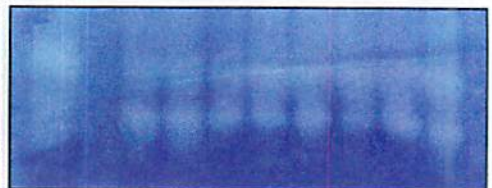
A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4 A5 C5 A6 C6



Asp. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A4 C4



Pen. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A5 C5



Fus. A1 C1 A2 C2 A3 C3 A6 C6

FIGURA 7 Padrões eletroforéticos da isoenzima catalase (CAT) e sorbitol desidrogenase (SDA) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 (A) e C-901 (C) dos tratamentos: controle (1), testemunha incubada (2), tratadas com fungicida (3), inoculadas com *Aspergillus flavus* (4), *Penicillium* (5) e *Fusarium moniliforme* (6). UFLA, Lavras-MG, 2001.

Apesar de os testes utilizados na determinação da qualidade inicial (Tabelas 1 e 2), terem detectado qualidade fisiológica semelhante entre as sementes dos híbridos Ag-122 e C-901, o que foi confirmado pelos resultados dos tratamentos controle, testemunha incubada, tratamento fungicida e inoculada com *Fusarium moniliforme*, detectados pelos testes de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência (Tabela 4), a qualidade fisiológica das sementes do híbrido Ag-122 foi mais afetada quando estas foram submetidas aos tratamentos de inoculação com *A. flavus* e *Penicillium* sp. Isso sugere uma susceptibilidade diferencial dos híbridos a esses organismos, o que concorda com relatos de Hoernisch & Davis (1994); Jones & Clifford (1983), citados por Mycock & Berjak (1995), de que as cultivares podem reagir de forma diferente à contaminação fúngica nas sementes por várias razões, as quais, segundo Agarwal & Sinclair (1987), estão sob controle genético.

De acordo com os resultados da Tabela 2, verificou-se que as sementes do híbrido C-901 apresentavam maior porcentagem total de dano mecânico, o que provavelmente possibilitaria uma invasão mais rápida pelos fungos em questão. No entanto, pelos resultados da Tabela 5, observa-se que as sementes do híbrido Ag-122 apresentaram menor incidência de *Aspergillus* spp. e *A. flavus* que as do híbrido C-901. Esses resultados estão em desacordo com Berjak (1987), quando relatou que sementes com danos são rapidamente invadidas por fungos, na maioria das condições de armazenamento empregadas e com Berry *et al.* (1990), segundo os quais, as sementes danificadas têm menor integridade de membrana, permitindo maior lixiviação de solutos e volatilização de exudatos, o que estimula a colonização por microrganismos. A maior umidade inicial de sementes do híbrido Ag-122 (11,2%) em relação às do C-901 (10,5%), poderia ser uma das causas da maior invasão fúngica nas sementes desse híbrido. Para Harrington (1972), os fungos de armazenamento podem crescer ativamente em sementes amiláceas com teor de água acima de 10%. Entretanto, para vários

autores, o limite de conteúdo de água nas sementes para que fungos de armazenamento causem danos é acima de 13% (Bewley & Black, 1994); 13,5% (Anderson & Baker, 1983 e Smith & White, 1988); para *A. flavus* e 17 - 18,5% e para *Penicillium* spp. 18,5% (Christensen & Kaufman, 1969 e 1974). Por outro lado, as sementes do híbrido Ag-122 submetidas à desinfestação superficial apresentaram 24% a mais de incidência de fungos que as do C-901, apesar de essas últimas apresentarem inicialmente uma ocorrência de fungos, em torno de 19% superior às do híbrido Ag-122 (Tabela 2). Isso sugere que essa resistência à penetração desses organismos seja mais varietal, como relatado por Agarwal & Sinclair (1987) e Hoernisch & Davis (1994); Jones & Clifford (1983), citados por Mycock & Berjak (1995).

TABELA 5 Percentuais médios de incidência dos fungos *Aspergillus* spp. e *A. flavus*, em sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Tratamentos	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Aspergillus flavus</i>
1 - Controle	2 c	1 c
2 -Test. incubada	9 b	7 b
3 - Fungicida	1 c	0 c
4 - <i>Aspergillus flavus</i>	22 a	22 a
5 -<i>Penicillium</i> sp.	1 c	0 c
6 -<i>F. moniliforme</i>	12 b	12 b
Híbridos	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Aspergillus flavus</i>
Ag-122	10,7 a	9,5 a
C-901	5,0 b	4,5 b

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Já, em relação ao teste de frio (Tabela 3), observou-se que os tratamentos de inoculação propiciaram qualidade fisiológica significativamente inferior, independente do híbrido. Provavelmente a alta incidência inicial de *Fusarium* sp. nas sementes tenha contribuído para esses resultados, pois, de acordo com Balmer (1978), as condições em que é realizado o teste frio, alta umidade e baixa temperatura, favorecem o desenvolvimento desse fungo. Resultados semelhantes também foram encontrados por Tanaka & Balmer (1980). No entanto, Von Pinho *et al.* (1995) não encontraram redução no vigor, pelo teste de frio, quando o referido patógeno encontrava-se presente. *F. moniliforme* parece causar maiores danos somente em germinação à baixa temperatura, visto que, nos demais testes, de modo geral, não se observou queda significativa de qualidade causada pela inoculação com esse fungo. Por outro lado, os testes de tetrazólio (viabilidade e vigor) foram pouco sensíveis na identificação de diferenças causadas pelos tratamentos de inoculação de fungos. Pontuações vermelhas encontradas em sementes infectadas, devidas ao metabolismo fúngico ou a produtos secundários da deterioração (Vieira & Von Pinho, 1999), provavelmente tenham contribuído para superestimar os valores percentuais de viabilidade por ocasião da avaliação e atribuição de notas às sementes pelo teste de tetrazólio e conseqüentemente, para essas pequenas divergências entre os resultados dos testes.

As sementes do híbrido C-901 apresentaram menor nível de incidência de *Aspergillus* spp. e *A. flavus* em relação ao híbrido Ag-122, independente do tratamento a que as sementes foram submetidas (Tabela 5). Observou-se, ainda, que os tratamentos controle, sementes tratadas com fungicida, bem como as inoculadas com *Penicillium* sp. apresentaram os menores índices de incidência de *Aspergillus* spp. e *A. flavus*; seguida das sementes inoculadas com *F. moniliforme* e testemunha incubada. Estes dados sugerem, um possível efeito antagônico entre os fungos *Aspergillus* spp e *A. flavus* com *Penicillium* sp, em

maior escala, e *Aspergillus* spp e *A. flavus* com *F. moniliforme*, em menor escala. No entanto, apesar do controle eficiente desses organismos pelo tratamento fungicida, esse não os erradicou em sua totalidade. Já, a incidência de *Fusarium* sp., nas sementes submetidas aos diferentes tratamentos variou em função do híbrido (Tabela 6). Assim é que, independente do tratamento a que as sementes foram submetidas, o híbrido C-901 sempre apresentou um menor nível de incidência de *Fusarium* sp. que o híbrido Ag-122. Vale ressaltar que na determinação da qualidade inicial (Tabela 2), as sementes de ambos os híbridos já apresentavam um alto nível de incidência desse organismo. Entretanto, apesar de o híbrido C-901 apresentar um nível de incidência de danos quatro vezes maior que Ag-122, isto não possibilitou, a exemplo de relatos na literatura (Berjak, 1987; Berry *et al.* 1990), uma maior infestação dos microrganismos. Parece que o fator genético da cultivar, conforme relatado por Agarwal & Sinclair (1987) e Brandão Júnior (1996), atuou mais fortemente nessa infestação.

Em relação à incidência de *Fusarium* sp., em ambos os híbridos (Tabela 6), apenas o tratamento com fungicida foi significativamente inferior aos demais. Porém, observou-se ainda um alto nível de incidência desse organismo, mesmo após tratamento. Isso sugere que o fungicida thiabendazole, utilizado para o tratamento, não foi eficiente na erradicação desse fungo. Nas sementes do híbrido C-901, o maior nível de incidência foi nas sementes submetidas à inoculação com *F. moniliforme*, ressaltando, no entanto, que esta não diferiu estatisticamente da testemunha incubada e do tratamento de inoculação com *A. flavus* e *Penicillium* sp, que por sua vez não diferiram do controle. De uma maneira geral, foram observados elevados índices de *Fusarium* sp. para ambos os híbridos, independente do tratamento utilizado.

TABELA 6 Percentuais médios de incidência dos fungos *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e total em sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungo (%)	Tratamentos	Híbrido	
		Ag-122	C-901
<i>Penicillium</i> sp.	1 - Controle	11 Ac	4 Bd
	2 -Test. incubada	21 Ab	10 Bc
	3 - Fungicida	3 Ad	0 Be
	4 - <i>Aspergillus flavus</i>	15 Abc	10 Ac
	5 - <i>Penicillium</i> sp.	51 Aa	49 Aa
	6 - <i>F. moniliforme</i>	14 Abc	20 Ab
<i>Fusarium</i> sp.	1 - Controle	60 Aa	29 Bb
	2 -Test. incubada	57 Aa	35 Bab
	3 - Fungicida	39 Ab	13 Bc
	4 - <i>Aspergillus flavus</i>	62 Aa	35 Bab
	5 - <i>Penicillium</i> sp.	59 Aa	33 Bab
	6 - <i>F. moniliforme</i>	63 Aa	44 Ba

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na vertical e maiúscula, na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Quanto à incidência total de fungos, para Ag-122, os tratamentos de inoculação *A. flavus* e *Penicillium* sp. apresentaram as maiores médias, que não diferiram significativamente da testemunha incubada e inoculação com *F. moniliforme*, que não mostraram diferença estatística em relação ao controle, sendo a menor média, a do tratamento fungicida. Para as sementes do híbrido C-901, as maiores incidências foram encontradas nos tratamento de inoculação com *Penicillium* sp. e *F. moniliforme*; seguidos, mas não diferindo de *F. moniliforme* pelo tratamento de inoculação com *A. flavus*; que não diferiu de controle e testemunha incubada, por último, o tratamento com fungicida, que não diferiu de testemunha incubada.

Para ambos os híbridos, nos tratamentos de inoculação com *A. flavus*, *Penicillium* sp e *F. moniliforme*, os valores, em termos numéricos, de

viabilidade detectados pelo teste de tetrazólio foram superiores aos detectados pelos demais testes (Tabelas 3 e 4). Esses resultados divergem dos de Moore (1951) que observou resultados semelhantes entre o teste de tetrazólio e o de germinação padrão em sementes de milho. Deve-se levar em consideração, no entanto, que durante a infecção e colonização, os microrganismos podem utilizar uma variedade de enzimas que atuam na degradação dos componentes da parede celular, de membranas e do tecido de reserva da semente e ainda produzir hormônios e toxinas (Amorim, 1995; Pascholati, 1995). Quando as sementes apresentam-se infectadas, os microrganismos ou produtos resultantes da deterioração podem causar coloração anormal, tais como pontuações mais avermelhadas sobre uma área de coloração fraca embaçada, que são devidas à reação do tetrazólio com produtos provenientes dos microrganismos ou daqueles resultantes da deterioração, pois altas concentrações de certos produtos tóxicos, metabólitos secundários que são armazenados dentro de vacúolos de tecidos normais, tendem a escapar em tecidos enfraquecidos (Vieira & Von Pinho, 1999). Tais padrões de coloração se apresentam como fonte de dúvidas por ocasião da avaliação e, sementes que apresentam esse tipo de tecidos, que caracterizam estádios avançados de deterioração, estádios esses considerados como não recuperáveis, e por isso deveriam ser considerados como não viáveis, são em algumas ocasiões computadas como sementes viáveis, o que provavelmente contribuiu para a divergência de resultados nos lotes de sementes de menores valores percentuais de germinação e que se apresentavam com microrganismos associados. Provavelmente, nos tratamentos de inoculação com *A. flavus* e/ou com *Penicillium* sp., por as sementes encontrarem-se infectadas por esses organismos (Tabelas 5 e 6), tenha havido o desenvolvimento deste tipo de coloração, o que pode ter gerado resultados diferenciados dos detectados pelos testes de germinação e emergência.

Por outro lado, uma outra explicação para o fato de os valores do teste de tetrazólio terem sido maiores do que os de germinação seria o fato de que, segundo Berjak (1987), maior atividade fúngica ocorre por ocasião da germinação de sementes infectadas, resultando em plantas menos vigorosas. Assim, mesmo que o fungo não tenha ainda causado muito dano, este pode ter efeito acentuado sobre o processo de germinação, e assim, sobre o vigor da plântula e da planta resultante. Como o teste de tetrazólio é rápido e a semente não é exposta ao processo de germinação o fungo poderia não estar ainda bem estabelecido, a ponto de causar perda de viabilidade. Isso é colocado por Krzyzanowski *et al.* (1991) e Marcos Filho *et al.* (1987) como vantagem do teste de tetrazólio. Segundo os autores, os microrganismos que são danosos às plântulas não se manifestam e, portanto, praticamente não interferem nos resultados dos testes. Isso sugere que o teste de tetrazólio deveria ser acompanhado do teste de sanidade das sementes, pois o primeiro é incapaz de detectar a presença de fungos nas sementes.

É possível ainda que, conforme relatos de McLean *et al.* (1992) algumas das micotoxinas que foram acumuladas durante o armazenamento possam ter apresentado efeitos prejudiciais apenas quando as sementes foram embebidas e teve início o processo de germinação.

Pelas estimativas de correlação (Tabela 7) entre os testes de tetrazólio e os demais testes de qualidade de sementes, observou-se que o teste de tetrazólio-viabilidade mostrou correlações positivas acima de 60%, com os testes de germinação, emergência e de frio, e de 56% com índice de velocidade de emergência. O teste de tetrazólio-vigor obteve correlação em torno de 78% com o teste de frio e, em torno de 50%, com germinação, emergência e condutividade elétrica.

Quando se compararam os resultados de tetrazólio-viabilidade com a incidência de fungos nas sementes, foram encontradas correlações negativas

entre tetrazólio viabilidade e incidência de *Penicillium* sp. e total de fungos acima de 50%, e entre tetrazólio vigor e incidência de *Fusarium* sp. e total de fungos. Esses resultados sugerem que a incidência de *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e total interferiram nos resultados dos testes de tetrazólio.

TABELA 7 Estimativas de correlações (r) entre os resultados dos testes de tetrazólio-viabilidade e tetrazólio-vigor e os testes de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), de frio, condutividade elétrica, porcentagem de incidência dos fungos *Aspergillus* spp., *A. flavus*, *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. em sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Qualidade Fisiológica	Tetrazólio-viabilidade	Tetrazólio-vigor
Germinação	0,65**	0,51**
Emergência	0,69**	0,56**
IVE	0,56**	0,41**
Teste de Frio	0,61**	0,80**
Condutividade Elétrica	0,34*	0,58**
Incidência de Fungos	Tetrazólio-viabilidade	Tetrazólio-vigor
<i>Aspergillus flavus</i>	-0,01 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
<i>Aspergillus</i> ssp.	-0,01 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
<i>Penicillium</i> sp.	-0,56**	-0,39**
<i>Fusarium</i> sp.	-0,46**	-0,64**
Total de fungos	-0,56**	-0,57**
Correlações de Pearson		

5 CONCLUSÕES

Os microrganismos *Aspergillus flavus* e *Penicillium* sp., quando em associação com sementes de milho, interferem na interpretação do teste de tetrazólio.

Sementes, quando em associação com fungos de armazenamento têm a viabilidade, determinada pelo tetrazólio, superestimada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMSON, D. Development of molds, mycotoxins and odors in moist cereals during storage. In: CHELKOWSKI, J. (ed.). **Cereal grain, mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elieser, 1991. p.119-148.
- AGARWAL, V.K.; SINCLAIR, J.B. **Principles of seed pathology**, Boca Raton: CRC Press, 1987. v.1-2.
- AGRIOS, C.N. **Plant pathology**. 2ed. New York: Academic Press, 1988. 703p.
- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: SIF, 1991. 292 p.
- AMORIM, L. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.234-243.
- ANDERSON, J.D.; BAKER, E. Deterioration of seeds during aging. Symposium: Deterioration mechanism in seeds. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.2, p.321-325, 1983.
- AOSA-ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 1983. 88 p. (Contribution, 32).
- BALMER, E. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1978. p.480-504.
- BEDENDO, J.P. **Metodologia para detecção de *Fusarium moniliforme* Sheld e sua ocorrência em sementes de milho (*Zea mays* L.) produzidas no Estado de São Paulo**. 1978. 68p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Escola Superior der Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BERJAK, P. Stored seeds: The problems caused by microorganisms (With particular reference to the fungi) In: NASSER, L.C.; WETZEL, M.M.; FERNANDES, J.M. **Seed Pathology**. International advance course, proceedings. Brasilia: Informativo ABRATES, 1987. p.38-50.

BERJAK, P.; VILLIERS, T.A.; DINI, M.; GEVERS, H.O. Deteriorative changes in embryos of long-stored, uninfected maize caryopses. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.52. p.109-116. 1986.

BERRY, E.C.; KNABE, R.P.; KARLEN, D.L. Seed quality: International between seed treatments and soil applied insecticides. In: ANUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 45, Washington, 1990. Conference... Washington: American Seed Trade Association. 1990.

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

BRANDÃO-JÚNIOR, D.S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho**. 1996. 110p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF, 1992. 365p.

BRODNIK, T. Influence of toxic products of *Fusarium graminearum* and *Fusarium moniliforme* on maize seed germination and embryo growth. **Seed science and technology**, Zurich, v.3, p.691-696, 1975.

BRODNIK, T.; KLEMENC, N., VOSPERNIK, P., ZUST, J. Influence of toxic from maize infected by *Aspergillus flavus*, *Penicillium rubrum* and *Fusarium graminearum* and aflatoxin B₁, rubratoxin A and toxin F-2 on maize embryo growth. **Seed science and technology**, Zurich, v.6, p.965-970, 1978.

CARVALHO, M.L.M.; SILVA, W.R. Refrigeração e qualidade de sementes de milho armazenadas em pilhas com diferentes embalagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.9, p.1319-1332, 1994.

CHERRY, J.P.; BEUCHAT, L.R.; KOEHLER, P.E. Soluble proteins and enzymes as indicators of change in peanuts infected with *Aspergillus flavus*. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Chicago, v.26, p.242-245, 1978.

CHERRY, J.P.; BEUCHAT, L.R.; YONG, C.T. Protein and amino acid changes in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds infected with *Aspergillus oryzae*. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Chicago, v.24, p.79-85, 1976.

CHERRY, J.P.; MAYNE, R.Y.; ORY, R.L. Protein and enzymes from seeds of *Arachis hypogaea* L. IX. Electrophoretically detected changes in peanut cultivars grown in different areas inoculation with *Aspergillus parasiticus*, **Physiology Plant Pathology**, London, v.4, n.24, p.425-434, 1974.

CHERRY, J.P.; YOUNG, C.T.; BEUCHAT, L.R. Changes in proteins and free and total amino acid of peanuts (*Arachis hypogaea* L.) infected with *Aspergillus parasiticus*, **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.53, p.2639-2649, 1975.

CHRISTENSEN C.M., LOPEZ, F.L.C. Pathology of stored seeds. **Proceeding of the International Seed Testing Association**, Copenhagen, v.28, n.4, p.701-711, 1963.

CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. Grain storage: the role of fungi in quality loss. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1969.

CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. Microflora. In: CHRISTENSEN, C.M. (ed.). **Storage of cereal grains and their products**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1974. p.158-192.

CHRISTENSEN, C.M.; SAUER, D.B. Microflora. In: CHRISTENSEN, C.M. (ed.). **Storage of cereal grains and their products**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists Inc., 1982. p.219-240.

CORDEIRO, M.J.; RAVENTOS, D.; SEGUNDO, B.S. Induction of PR proteins in germinating maize seeds infected with the fungus *Fusarium moniliforme*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.41, n.3, p.189-200, 1992.

CUBBY, T.F.; WALLEN, V.R. Seed-borne disease of corn in 1964 and their effect on germination. **Canadian plant disease survey**, Ottawa, v.45, p.33-34, 1965.

DELOUCHE, J.C.; STIL, T.W.; RASPET, M.; LIEHARD, M. O teste de tetrazólio para viabilidade de semente. Trad. Flávio Rocha. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.

DHINGRA, O.D. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.7, n.1, p.139-145, 1985.

DJAKAMIHARDJA, G.; SCOTT, G.E.; FUTRELL, M.C. Seedling reaction of inbreeds and singles crosses of maize to *Fusarium moniliforme*. *Plant Disease Reporter*, Washington, v.5, n.54, p.301-310, 1970.

DOEHLERT, D.C.; KNUTSON, C.A.; VESONDER, R.F. Phytotoxic effects of fumonisin B1 on maize seedling growth. *Mycopathology*, Dordrecht, v.127, n.2, p.117-121, 1994.

FISHER, M.L.; ANDERSON, A.J.; ALBERSHEIM, P. Host pathogen interactions, VI. A single plant protein efficiently inhibits endopolygalacturonases secreted by *Colletotrichum lindemuthianum* and *Aspergillus niger*. *Plant Physiology*, Bethesda, v.51, p.489-491, 1973.

FRANÇA NETO, J.B. O teste de tetrazólio em sementes de soja. In: VIEIRA, R.D.; SADER, R.; CARVALHO, N.M. *Curso sobre testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FCAV/ UNESP/ FUNEP, 1992. p.63-74.

GOLINSKI, P. Secondary metabolites (mycotoxins) produced by fungi colonizing cereal grain in storage - structure and proprieties. In: CHELKOWSKI, J. (ed.). *Cereal grain, mycotoxins, fungi and quality in drying and storage*. Amsterdam: Elieser, 1991. p.335-404.

GOODMAM, R.N.; STUBER, C.W. *Genetic identification of lines and crosses using isoenzyme electrophoresis*. American Seed Trade Association, 1980. 30p.

GOULART, A.C.P.; FIALHO, W.F.B. Incidência e controle de *Fusarium moniliforme* Sheldon em sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.21, n.1, p.216-221, 1999.

HALLOIN, J.M. Deterioration resistance mechanisms in seeds. *Phytopathology*, St Paul, v.73, p.335-339, 1983.

HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. *Seed biology*. New York: Academic Press, 1972, v.3, p.145-245.

- KELLER, N.P.; BUTCHKO, R.A.; SARR, B.; PHILLIPS, T.D. A visual pattern of mycotoxin production in maize kernels by *Aspergillus* spp. *Phytopathology*, St. Paul, v.84, p.483-489, 1994.
- KRYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. O teste de vigor. *Informativo ABRATES*, Brasília, v.2, n.1, p.20-27, mar. 1991.
- LEITE, A.; PASCHOLATI, S.F. Hospedeiro: alterações induzidas por fitopatógenos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos*. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.417-454.
- MACHADO, J.C. *Patologia de sementes: fundamentos e aplicações*. Brasília: Ministério da Educação; Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.
- MACHADO, J.C. *Tratamento de sementes no controle de doenças*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 138p.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.
- McLEAN, M.; MYCOCK, D.J.; BERJAK, P. A preliminary investigation of extracellular enzyme production by some species of *Aspergillus*. *South African Journal of Botany*, Pretoria, v.51, p.425-431. 1985.
- McLEAN, M.; SNYMAN, C.; BERJAK, P.; WATT, M.P.; DUTTON, M.F. Immunocytochemical localization of aflatoxin B₁. *Proceedings of the Electron Microscopy Society of Southern Africa*, v.22, p.73-74, 1992.
- MILLIS, P.R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A.E. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporoides* isolates using PCR. *Fems Microbiology Letters*, Cambridge, v.98, p.137-144, 1992.
- MOORE, R.P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. *Seed Technologist News*, Florence, v.44, n.3, p.22-24, 1972.
- MOORE, R.P. *Manual de ensayos al tetrazólio*. Asociacion Internacional de Ensayos de Semillas, 1985. 91p.

MOORE, R.P. Tetrazolium evaluation of the relationship between total germination and seed quality. **Proceeding of the Association of Official Seed Analyst.** Virginia, 1951. 5p.

MOORE, R.P. Tetrazolium Testing Guide. **Seed Technologist News**, Florence, v.31, n.2, p.18-21. 1962.

MORENO, M.E.; VIDAL, G.G. Preserving the viability of stored maize with fungicides. **Plant Disease**, Washington, v.65, p.260-261, 1981.

MYCOCK, D.J.; BERJAK, P. Intraseed fungal location in maize of selected seed storage fungi in relation to some physiological parameters. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.58, p.139-144. 1992a.

MYCOCK, D.J.; BERJAK, P. Paradoxical behavior of seed storage and field fungi: an overview. **South African Journal of Science**, Pretoria, v.88, p.371-375, 1992b.

MYCOCK, D.J.; BERJAK, P. The implications of seed - associated microflora during storage. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.). **Seed development and germination.** New York: Marcel Decker. 1995. p.747-766.

MYCOCK, D.J.; LLOYD, H.L.; BERJAK, P. Mycopylar infection of post-harvest caryopses of *Zea mays* by *Aspergillus flavus* var. *columnaris* var. nov. **Seed science and technology**, Zurich, v.16, p.647-653, 1988.

MYCOCK, D.J.; LLOYD, H.L.; BERJAK, P. Systemic transmission of *Aspergillus flavus* var. *columnaris* from one seed generation to the next. **Seed science and technology**, Zurich, v.20, p.1-13, 1992.

MYCOCK, D.J.; RIJKENBERG, F.H.J.; BERJAK, P. Infection of maize seedlings by *Aspergillus flavus* var. *columnaris* var. nov. **Seed science and technology**, Zurich, v.18, p.693-701, 1990.

NAIK, D.M.; NAWA, I.N.; RAEMAEEKERS, R.H. Absence of an effect from internally seed-borne *Fusarium moniliforme* on emergence, plant growth and yield of maize. **Seed science and technology**, Zurich, v.10, p.347-356, 1982.

NEERGAARD, P. **Seed pathology.** London: Mac Millan Press, 1977. 1191p.

OLIVEIRA, J.A. Efeito de métodos de colheita e do tipo de armazenamento na qualidade de sementes de milho. 134p 1997. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do Parasitismo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.343-364.

PEREIRA, O.A.P. Tratamento de sementes de milho. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, 1986, Campinas. Palestras. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.145-159.

PINTO, N.F.J.A. Patogenicidade de fungos de solo em sementes de milho. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. Relatório Técnico Anual 1988-1991. Sete Lagoas: EMBRAPA, 1992. p.121-122.

POPINIGIS, F. Fisiologia de sementes. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

QASEM, S.A.; CHRISTENSEN, C.M. Influence of moisture content, temperature, and time on the deterioration of stored corn by fungi. Phytopathology, St. Paul, v.48, p.544-549, 1958.

QASEM, S.A.; CHRISTENSEN, C.M. Influence of various factors on the deterioration of stored corn by fungi. Phytopathology, St. Paul, v.50, n.10, p.703-709, 1960.

RAVENTOS, D.; CORDEIRO, M.J.; SEGUNDO, B.S. Fungal-induced synthesis of pathogenesis-related proteins in germinating maize embryos. Physiological and Molecular Plant Pathology, London, v.45, n.5, p.349-358, 1994.

RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne disease. 3ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 1979. 320p. (Phytopathological Papers, 23).

ROSS, I.J.; LOEWER, O.J.; WHITE, G.M. Potential for aflatoxin development in low temperature drying systems. Transactions of the ASAE, St. Joseph, Michigan, p.1439-1443, 1979.

RUSSELL, G.H.; MURRAY, M.E.; BERJAK, P. Storage microflora: on nature of the host/pathogen relationship in fungal-infected maize seeds. **Seed science and technology**, Zurich, v.10, p.605-618. 1992.

SACANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: A Review **Biochemistry Genetics**, New York, v.13, 1975. p.402-405.

SCHMIDT, H.L. Cereal grain structure and the way in which fungi colonize Kernel cells. In: **CHELKOWSKI, J. (ed.)**. **Cereal grain, mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p.1-22.

SHURTLEFF, M.C. **Compendium of corn diseases**. Urbana: APS Press, 1986. 105p.

SILVA, E.A.A. Interferência de microrganismos nos padrões isoenzimáticos de sementes e coleótilos de milho: Aplicação na identificação de cultivares e pureza genética de milho. 1997. 87p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

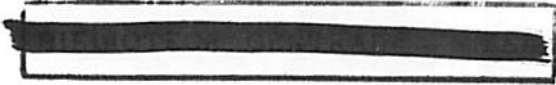
SINHA, K.K.; SINHA, A.K. Impact of stored grain pests on seed deterioration and aflatoxin contamination in maize. **Journal Stored Products Research** Oxford, v.28, n.3, p.211-219, 1992.

SMITH, D.R.; WHITE, D.G. Disease of corn. In: **SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W.** **Corn and corn improvement**. 3ed. Madison: Wisconsin, 1988. p.687-766.

SMITH, M.T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation - tolerant and desiccation - sensitive seeds. In: **KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.)**. **Seed development and germination**. New York: Marcel Decker, 1995. p.701-746.

TANAKA, M.A.S.; BALMER, E. Efeito da temperatura e dos microrganismos associados ao tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.5, n.1, p.87-93, 1980.

VIEIRA, M.G.G.C. Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro. 1996. 118p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.



VIEIRA, M.G.G.C. ; CARVALHO, M.L.M.; MACHADO, J.C. **Controle de qualidade de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 113p.

VIEIRA, M.G.G.C.; SANTANA, D.G.; SOUZA, L.C.F.; FRAGA, A.C.; CARVALHO, M.L.M. Viabilidade do uso do teste de tetrazólio na determinação do índice de vigor de sementes de milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 8, Foz do Iguaçu, 1993. **Resumos...** Foz do Iguaçu: ABRATES, 1993. p.148.

VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (ed.). **Vigor de sementes**. Conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.8-13.

VON PINHO, E.V.R. **Influência do Tamanho da semente e do Tratamento fungicida e inseticida na preservação da Qualidade de sementes de milho durante o Armazenamento e seu Comportamento no campo**. 1991. 112p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VON PINHO, E.V.R.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A.D.; MENTEN, J.O.M.; MORAES, A.C.S. Efeitos do tratamento 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.

WASOWICZ, E. Changes of chemical grain components, especially lipids, during their deterioration by fungi. In: CHELKOWSKI, J. (ed.). **Cereal grain, mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elieser, 1991. p.229-280.

WETZEL, M.M.V.S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.260-274.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DE DANOS MECÂNICOS, TRATAMENTO FUNGICIDA E AMBIENTE DE ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)

RESUMO

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes. Influência de danos mecânicos, tratamento fungicida e ambiente armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). 2001. 173p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Objetivando determinar o efeito de diferentes níveis de dano mecânico, tratamento fungicida e condições de armazenamento na qualidade de sementes de milho, foram conduzidos ensaios no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes e no Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG. Utilizaram-se sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901. Os tratamentos constaram da separação das sementes de cada híbrido em dois lotes com diferentes níveis de danos, os quais foram novamente divididos em dois e apenas um recebeu tratamento fungicida. Parte das sementes foi separada para avaliações e a outra foi dividida, embalada em sacos de papel multifoliado, sendo metade levada ao armazenamento convencional e metade ao armazenamento com controle de temperatura e umidade relativa (10°C e 50%UR). Após 12 meses, as sementes foram avaliadas por meio dos testes de primeira contagem, germinação, frio, tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor, tetrazólio-nota média, condutividade elétrica, emergência em substrato de terra e areia, índice de velocidade de emergência, T-50 e sanidade. De acordo com os resultados foi possível concluir que sementes de milho, armazenadas sob condições controladas apresentaram qualidade superior àquelas armazenadas sob condições ambientes; sementes com menor nível de dano mecânico apresentaram qualidade fisiológica superior em relação às com maior nível, antes e após armazenamento de 12 meses; o tratamento fungicida é eficiente para controlar fungos de armazenamento em sementes de milho, mas pode causar fitotoxicidade, principalmente em sementes danificadas e armazenadas por 12 meses sob condições de ambiente.

Comitê Orientador: Prof^ª Dr^ª Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Orientadora), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^ª Dr^ª Maria Laene Moreira de Carvalho, Prof^ª Dr^ª Édila Vilela de Resende Von Pinho.

ABSTRACT

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes. Influence of mechanical damages, fungicide treatment and storage conditions, on the quality of maize seeds (*Zea mays* L.). 2001. 173p. Thesis (Doctorate in Crop Science)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The objective of this work was to evaluate the effects of different levels of mechanical damages, seed treatment with fungicide and storage conditions on the final quality of maize seeds. In this work seeds of two hybrids lines, Ag-122 and C-901 provided by the Companies Agroceres and Cargill were used. Seeds were separated in two parts with different levels of mechanical damages and then each sub-divided in two other parts, one treated with fungicide. Part of the seeds of each treatment was used for evaluation and the other was splitted out and wrapped in multifold paper bags, half was taken to conventional storage and the other fraction stored at temperature and atmosphere humidity of 10°C and 50% RH. After 10 months storage seeds were evaluated by the following tests: 1st germination count, standard germination, cold test, tetrazolium viability, tetrazolium vigour, tetrazolium medium score, electrical conductivity, emergence in soil, emergence speed index, T50 and seed health. According to the results, seeds of maize stored under controlled conditions present physiological quality superior to the seeds stored under environmental conditions. Seeds with less mechanical damage presented physiological quality superior in relation to seeds with more mechanical damage, before and after storage for 12 months. The fungicide treatment is efficient in the control of storage fungi in seeds of maize, however they may cause phytotoxicity mainly when seeds are mechanical damaged and stored for 12 months. In that case losses are higher under natural storage conditions.

Guidance Committee: Prof^a Dr^a Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Major Professor), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^a Dr^a Maria Laene Moreira de Carvalho, Prof^a Dr^a Édila Vilela de Resende Von Pinho.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade da semente é fundamental para o sucesso do cultivo de qualquer espécie vegetal. A semente é responsável por grande parte do rendimento e apresenta um baixo custo em relação ao custo total de produção.

Para se produzirem sementes com alta qualidade torna-se necessário um monitoramento em todas as fases da produção. Além da condução adequada da lavoura, deve-se ressaltar a importância dos cuidados nas fases de colheita, processamento e armazenamento.

A ocorrência de danos físicos é um dos principais fatores de deterioração das sementes e um aspecto intrínseco ao processamento mecânico das mesmas.

A injúria mecânica tem sido apontada como um dos mais graves problemas do sistema de produção de sementes de milho, o qual é altamente mecanizado. Nesse sistema, após a colheita, que pode ou não ser mecanizada, as sementes são processadas em Unidades de Beneficiamento de Sementes (UBS), onde passam por processos de pré-limpeza, secagem, limpeza, classificação, tratamento com inseticidas e fungicidas em misturadores mecânicos e finalmente são ensacadas e armazenadas até a comercialização. Essas operações dinamizam o sistema, mas, ao mesmo tempo, podem impor perdas na qualidade do produto, causadas por danos físicos.

Com este trabalho, teve-se como objetivo determinar o efeito de diferentes níveis de dano mecânico e tratamento fungicida na qualidade de sementes de milho, de dois híbridos, armazenadas por 12 meses, sob condições controladas e de ambiente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Deterioração de sementes

A deterioração de sementes pode envolver transformações físicas e químicas, incluindo destruição de integridade intracelular, decréscimo na atividade de enzimas, peroxidação de lipídios e reações não enzimáticas (Priestley, 1986; Wettlaufer & Leopold, 1991).

Os mecanismos precisos pelos quais as sementes perdem a sua viabilidade ainda não estão bem estabelecidos, embora diversas teorias tenham sido enunciadas (Gill & Delouche, 1973; Anderson & Barker, 1983; Zhang *et al.*, 1994). Segundo Roberts (1973), isso se deve ao grande número de alterações citológicas e metabólicas observadas no processo, tornando difícil o estabelecimento de causa e efeito de uma resposta deteriorativa específica.

As causas básicas da deterioração, de acordo com McGee (1983), dividem-se em duas categorias: a primeira seria a dos danos causados por microrganismos, insetos e roedores ou deterioração natural dos tecidos durante o envelhecimento; a segunda seria devida a causas fisiológicas e bioquímicas ligadas ao metabolismo, incluindo danos em macromoléculas, que podem levar à desnaturação de enzimas e inativação dos ácidos nucléicos; membranas não funcionais, diminuição na eficiência metabólica de organelas celulares e órgãos, por causa da elevação nos níveis de mutações somáticas com o aumento de idade do tecido, acarretando mutações indesejáveis que conduzem a disfunções metabólicas.

Para Delouche & Baskin (1973), Villiers (1973), Lin (1988), Basavarajapa *et al.* (1991), Tyagi (1992), Khan *et al.* (1996), o processo de deterioração tem início com a desorganização de membranas e perda de sua

integridade. Conforme Villiers (1973) o mecanismo de degeneração das membranas seria a produção de radicais livres na cadeia dos ácidos graxos insaturados na presença de oxigênio. Segundo Bewley & Black (1994), as membranas celulares são constituídas de uma camada dupla de moléculas de lipídios, às quais se associam, interna e externamente a moléculas de proteínas. Essa camada dupla age como uma barreira à difusão geral de materiais para o interior e exterior das células e organelas e proporciona um meio adequado para o funcionamento de proteínas mensageiras. Assim, segundo Wilson & McDonald (1986), a desestruturação das membranas teria reflexo sobre a capacidade de regular o fluxo de solutos, tanto numa célula como numa organela.

2.2 Efeito da condição de armazenamento na deterioração de sementes

A sistemática de progressão da deterioração nos tecidos de uma semente depende da causa concreta da deterioração. Quando as sementes apresentam danos mecânicos ou por insetos, o ponto inicial da deterioração seria onde ocorreu o dano. Em outros casos, como retardamento de colheita, secagem mal feita ou armazenamento inadequado, é provável que a deterioração se dê a partir das extremidades do eixo embrionário (Vieira & Carvalho, 1994).

A velocidade de deterioração de sementes de milho, durante o armazenamento, é influenciada por vários fatores, sendo os mais importantes a temperatura, a umidade relativa do ambiente, a taxa de crescimento dos organismos presentes, a localização e a severidade dos danos mecânicos (Qasem & Chistensen, 1958 e 1960; Cobb & Jones, 1965; Delouche, 1976; Gonçalves, 1981; Randhawa *et al.*, 1990; Smith & Berjak, 1995), as condições de pré e pós-colheita, a condição inicial da semente, as características genéticas da cultivar (Bewley & Black, 1985 e 1994). Segundo Neergaard (1977), esses fatores operam em conjunto na deterioração e podem ser responsáveis pelas diferenças de

comportamento entre lotes de sementes armazenadas nas mesmas condições. A deterioração não pode ser evitada, porém sua velocidade pode ser controlada até determinado ponto, pelo emprego de técnicas adequadas de produção, colheita, secagem, beneficiamento, armazenamento e manuseio (Popinigis, 1985).

Conforme Fontes (1980), as condições de armazenamento influem no retardamento ou na continuidade da deterioração iniciada em qualquer fase do processamento da semente, graças a agentes adversos como umidade, temperatura, fungos, insetos, roedores e ácaros. A refrigeração de sementes não reduz seu conteúdo de água, mas pode reduzir consideravelmente a velocidade de perda de germinação, pois processos biológicos, dentro do ecossistema de uma massa de sementes, são influenciados pela temperatura (Côme, 1983). A redução na umidade das sementes é um outro fator importante a ser considerado no armazenamento de sementes. Segundo Harrington (1972) e Bewley & Black (1994), a redução de 1% no grau de umidade das sementes ou o abaixamento de 5°C na temperatura é capaz de duplicar o período de vida de sementes armazenadas. Oscilações de umidade relativa durante o armazenamento, também são prejudiciais à preservação da qualidade das sementes. Bewley & Black (1994) observaram que sementes armazenadas por oito semanas sob condições alternadas de baixa e alta umidade relativa, deterioraram mais intensamente, quando comparadas a sementes armazenadas em condições constantes de umidade. No entanto, com relação à alternância de temperatura durante o armazenamento, não houve efeito negativo sobre a qualidade das sementes. Mas, as temperaturas mais elevadas foram altamente prejudiciais.

Nas sementes, a água pode estar livre, ocupando os espaços intermoleculares, como solvente ou como constituinte das macromoléculas. Dependendo do tipo de água contido nas sementes, poderá ocorrer a aceleração do processo de deterioração durante o armazenamento (Bewley & Black, 1994).

Assim, em condições de alta temperatura e alta umidade relativa do ar, parte da água contida na semente se dispersa nos constituintes coloidais, preenche os espaços capilares e torna-se disponível para ser usada nas reações químicas e bioquímicas, causando desnaturação de proteínas, gelatinização de carboidratos, além de poder propiciar o desenvolvimento de microrganismos (Pereira, 1992).

Trabalhos estudando variações de temperatura e umidade durante o armazenamento de sementes de milho demonstraram que uma das combinações ideais para a conservação em períodos curtos, entre a colheita e a época de semeadura, para sementes com 12 a 13% de água, seria um ambiente com 20°C de temperatura e umidade relativa do ar abaixo de 60% (Delouche & Baskin, 1973 e Maeda *et al.*, 1987). No entanto, segundo Fratin (1987), é possível o armazenamento de sementes de milho por período prolongado em armazém convencional, sem controle de temperatura e umidade relativa, desde que estas apresentem elevada qualidade fisiológica no início do armazenamento. Tosello (1970) observou que, com 12 meses de armazenamento convencional, em Campinas, SP, sementes de milho apresentaram redução na germinação de 96 para 93%. Ao final de 17 meses, a porcentagem de germinação foi reduzida para 57%.

Delouche *et al.* (1973), propuseram, para manutenção da germinação e vigor de sementes de cereais com 13% de umidade em regiões tropicais e subtropicais, as seguintes condições de armazenamento: para um armazenamento de nove meses, a soma da temperatura com a umidade relativa não pode ultrapassar o valor de 80; para 18 meses, essa soma não deve ultrapassar 70 e para um período de 5 a 15 anos, deve ser menor que 45.

Freitas (1992) observou que sementes de milho armazenadas em câmara, com temperatura controlada de 8°C, independente do tipo de embalagem, conservaram a germinação por 16 meses, em virtude da menor taxa de respiração,

proporcionada pela condição de baixa temperatura no interior da câmara e que as sementes embaladas em papel multifoliado, armazenadas em condições de ambiente, em que a temperatura variou de 17 a 23°C apresentaram maiores reduções na qualidade fisiológica ao longo do armazenamento.

Estudando o efeito do armazenamento na qualidade de sementes de milho, Mora & Echandi (1976) verificaram que, em temperaturas iguais ou inferiores a 20°C, a viabilidade foi mantida por um período bem maior do que em condições não controladas.

Prasad & Pathak (1987), observaram redução significativa na qualidade de sementes de milho armazenadas em ambientes com umidade relativa do ar variando de 69 a 82% e temperatura de 28,9 a 36,5°C, após seis meses.

Avaliando o comportamento de sementes de milho e sorgo em diferentes condições de armazenamento, Maeda *et al.* (1987) verificaram que a velocidade de deterioração das sementes esteve diretamente relacionada com a temperatura e o teor de água em equilíbrio com a umidade relativa do ambiente. Temperatura de 20°C e umidade relativa de 33% ou 55%, foram as condições que proporcionaram melhor conservação das sementes.

De acordo com Moreno & Ramirez (1988), além de temperatura e umidade serem os principais fatores que interferem na longevidade das sementes, existe também uma influência genética na longevidade de sementes de milho, sob flutuações de temperatura e umidade relativa do ar. Bewley & Black (1994) relataram que sementes de cultivares de milho duro e dentado apresentam maior longevidade que de milho doce e ceroso em condições de armazenamento convencional. Entretanto, em condições controladas de umidade e temperatura, existem pequenas variações. Lozano & Mayer (1990) também observaram diferenças de respostas entre as cultivares armazenadas a 20°C; sendo que a cultivar com menor potencial de armazenamento, manteve um maior grau de

umidade, em condições de alta umidade relativa do ar por longos períodos. Esses resultados foram atribuídos às diferenças químicas e morfofisiológicas existentes entre as cultivares.

Em sementes de milho inoculadas com *Aspergillus* spp., Qasem & Christensen (1960) observaram que com 24 meses de armazenamento a 20°C, apesar da alta incidência de fungos, a germinação não foi afetada. Entretanto, à temperatura de 30°C, a porcentagem de germinação foi reduzida a zero. Moreno-Martinez *et al.* (1994) verificaram uma redução na germinação de sementes de milho infectadas por *Aspergillus* sp. antes e durante o armazenamento.

Carvalho & Silva (1994) constataram uma redução na incidência de fungos em sementes de milho, após seis meses de armazenamento, tanto em armazém convencional como em refrigerado e, em consequência, resultados superiores nos testes de germinação e de frio.

Von Pinho (1991) encontrou maior porcentagem de germinação de sementes no teste de frio, após seis meses de armazenamento convencional de sementes de milho infectadas por *Fusarium moniliforme* do que no início, o que sugere que o fungo pode tornar-se menos agressivo com o tempo. Oliveira (1997) obteve resultados semelhantes em armazenamento refrigerado. Em armazenamento convencional, foi detectada uma redução no vigor pelo teste de frio após 12 meses. Segundo Balmer (1978), as condições em que é realizado o teste de frio (alta umidade e baixa temperatura), favorecem o desenvolvimento de *F. moniliforme*.

2.3 Efeito de danos mecânicos na deterioração de sementes

O dano físico é uma das principais causas da diminuição da qualidade de sementes de milho. Muitos danos ocorrem durante a colheita e nas subseqüentes operações de processamento e secagem artificial. Durante a colheita e o

beneficiamento, as sementes ficam sujeitas a cargas que excedem sua resistência. A danificação mecânica é causada por choques e/ou abrasões das sementes contra superfícies duras ou contra outras sementes, o que origina sementes quebradas, trincadas, fragmentadas, arranhadas ou inteiramente danificadas (Andrews, 1965; Delouche, 1976; Keller *et al.*, 1972; Srivastava *et al.*, 1976; Pierce & Hanna, 1985).

Os danos mecânicos causados às sementes nas diversas fases da colheita e do beneficiamento reduzem o seu rendimento, a germinação, o vigor e o desempenho no campo (Fiscus *et al.*, 1971; Delouche, 1976; Carvalho & Nakagawa, 1988; Araújo, 1995). O comportamento das sementes quanto à resistência a danos mecânicos pode variar entre as cultivares (Finch *et al.*, 1980; Gonçalves, 1981; Johnson & Russel, 1982; Leford & Russel, 1985).

Vários fatores, especialmente físicos e biológicos, interrelacionados, podem contribuir para que o processo de deterioração de semente de milho se instale e se acentue sempre que o pericarpo, uma barreira natural de proteção, for rompido. As trincas no pericarpo são portas de entrada para microrganismos, especialmente fungos (Mantovani & Fontes, 1989).

As sementes com danos mecânicos apresentam menor integridade de membrana, permitindo maior lixiviação de solutos e volatilização de exudatos, que por sua vez, estimulam a colonização por microrganismos (Berry *et al.*, 1990). Essas sementes germinam lentamente e são menos capazes de responder aos estresses pelos seus próprios mecanismos de defesa. Assim, sementes danificadas mecanicamente não mantêm o vigor e a viabilidade durante o armazenamento.

Os danos mecânicos são conhecidos há muito tempo em programas de produção de sementes. Os primeiros trabalhos experimentais a esse respeito

datam do início do século XX, estando correlacionados com a germinação, emergência, vigor e produção (Fagundes *et al.*, 1972; Bewley & Black, 1985).

Os danos mecânicos podem destruir estruturas essenciais das sementes. Danos não visíveis a olho nu aumentam o número de plantas fracas e anormais, os níveis de susceptibilidade a microrganismos, a sensibilidade a danos químicos causados por fungicidas e reduzem o potencial de armazenamento. Além disso, os efeitos cumulativos das danificações mecânicas afetam a germinação, o vigor e o potencial de produtividade, como também, provocam a morte das sementes (Copeland, 1972; Moore, 1972; Silva, 1983; Rocha *et al.*, 1984; Popinigis, 1985; Carvalho & Nakagawa, 1988; Jahufer & Borovoi, 1992). Sementes danificadas são também mais susceptíveis ao ataque de microrganismos de solo (Rocha *et al.*, 1984; Pereira, 1991). De acordo com Bunch (1962); Toledo & Marcos Filho (1977); Ng *et al.* (1995) e Smith & Berjak (1995), a presença de injúrias, além de favorecer a um maior desenvolvimento de fungos de armazenamento, eleva a taxa respiratória, principalmente em ambientes com alta temperatura e umidade relativa. Na semente quebrada ocorre um aumento na deterioração da matéria graxa, devido ao aumento da superfície exposta à oxidação (Puzzi, 1989). Tais fatores são prejudiciais à conservação das sementes.

Oliveira (1997) observou perdas maiores ao longo de 18 meses de armazenamento de sementes de milho danificadas mecanicamente, em comparação às não danificadas e Cícero *et al.* (1997) relataram uma redução acentuada na porcentagem de germinação de sementes de milho, inoculadas com *Fusarium moniliforme* e *Aspergillus* sp., quando estas foram previamente submetidas à danificação mecânica.

Segundo Bewley & Black (1985) as danificações mecânicas têm se revelado como as maiores responsáveis pela redução da viabilidade e da

qualidade sanitária das sementes, principalmente em anos em que a maturação foi deficiente e as condições de colheita foram inadequadas.

Brandão-Júnior *et al.* (1999) detectaram, pelos testes de germinação, envelhecimento artificial, índice de velocidade de emergência, emergência e peso seco, em sementes de milho da cultivar Ag-122, redução na qualidade fisiológica de sementes danificadas.

Nas sementes são observados vários níveis de qualidade, em função das condições a que foram submetidas antes do armazenamento. Assim, não se pode esperar que sementes de um lote de média qualidade fisiológica e com incidência de danos mecânicos apresentem, após o armazenamento, um comportamento semelhante ao das sementes de um lote de alta qualidade (Carvalho & Nakagawa, 1988).

Os efeitos de danos mecânicos na viabilidade e vigor das sementes podem ser imediatos ou latentes (Delouche, 1976). Os efeitos imediatos de danificação mecânica caracterizam-se pela redução da germinação e do vigor logo após a semente ter sido injuriada. Este tipo de dano é grave apenas quando o grau de injúria é significativo. Se a extensão da injúria não for acentuada, a semente pode restaurar o tecido afetado e a germinação se processa de forma normal. Mas, essa cicatrização consome tempo e energia, o que provoca o retardamento da germinação, bem como a emergência de uma plântula mais fraca. Os efeitos latentes não afetam de imediato a viabilidade das sementes, porém, durante o armazenamento as sementes injuriadas sofrem redução na germinação e no vigor, com reflexos negativos no potencial de armazenamento e no desempenho das sementes e plantas no campo (Fagundes *et al.*, 1972; Moore, 1972; Delouche, 1976; Rocha *et al.*, 1984; Bewley & Black, 1985; Popinigis, 1985; Carvalho, 1986; Carvalho & Nakagawa, 1988; Andrade & Borba, 1993; Peterson *et al.*, 1995).

Segundo Moore (1972), os efeitos latentes da injúria mecânica são mais graves quando essa é do tipo “amassamento”. Nesse tipo de injúria a área do tecido não-injuriado em contato com o injuriado é muito maior do que quando esta é por “quebramento”. Dessa forma o tecido afetado serve como um “centro de infecção” para o resto da semente.

2.4 Interferência de microrganismos na deterioração de sementes

A qualidade sanitária da semente influencia diretamente o processo de deterioração durante o armazenamento. Essa qualidade é caracterizada pela presença e nível de ocorrência de fungos, bactérias, vírus, nematóides e insetos que causam doenças ou danificam a semente ou, ainda, são por ela transmitidos e são capazes de causar doenças e reduções na qualidade e na produtividade da cultura (Popinigis, 1985).

Os fatores envolvidos no estabelecimento dos fungos dentro dos tecidos da semente são, em parte, dependentes da constituição genética das sementes. No entanto, os maiores problemas de deterioração fúngica que ocorrem, quando em condição de armazenamento, têm sua origem no campo. As cultivares podem reagir de forma diferente à contaminação fúngica nas sementes por várias razões, como o nível de fenólicos, a espessura do tegumento e o revestimento ceroso que pode variar entre as cultivares, afetando o processo de infecção, tornando-se desejável a seleção de cultivares resistentes (Halloin, 1983; Agarwal & Sinclair, 1987; Berjak, 1987; Hoernisch & Davis, 1994; Jones & Clifford, 1983, citados por Mycock & Berjak, 1995).

Os fungos que se associam às sementes têm sido tradicionalmente divididos em dois grupos ecológicos, os fungos de campo e os fungos de armazenamento (Christensen, 1973; Dhingra, 1985; Berjak, 1987; Bewley & Black, 1994). Essa divisão não é baseada em taxonomia, mas leva em conta,

principalmente, as exigências em grau de umidade das sementes requeridas pelos fungos. Segundo Berjak (1987), os fungos de campo são assim chamados, porque invadem as sementes durante seu desenvolvimento na planta-mãe, no campo, ou logo após a colheita, quando o grau de umidade da semente está em equilíbrio com uma umidade relativa elevada. Quando as sementes são secas até teores de água adequados ao armazenamento, considera-se que o desenvolvimento dos fungos de campo é paralisado e os fungos de armazenamento são capazes de se desenvolver nas sementes, mesmo nessas condições de baixa umidade. Entretanto, segundo Balmer (1978), *Fusarium* spp., tradicionalmente considerado como fungo de campo, tem-se mostrado em alta incidência em sementes com umidade próxima de 14%, podendo inclusive promover a deterioração das sementes durante o armazenamento. Thomas & Buddenhagen (1980) e Von Pinho (1991) relataram que *Fusarium. moniliforme* permaneceu viável em sementes de milho durante 12 e 15 meses, em armazenamento convencional.

Bankole (1994) e Mycock & Berjak (1995) relataram que durante o armazenamento de sementes de milho, a incidência dos fungos considerados de campo, como *Fusarium* sp., *Alternaria alternata*, *Botryodiplodia theobromae* e outros, podem reduzir com o tempo, ao passo que a dos fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, considerados de armazenamento, pode aumentar significativamente, causando redução acentuada na germinação. Dungan & Koheler (1994), observaram redução considerável de infecção de *F. moniliforme* após três anos de armazenamento de sementes de milho. Já, Abbas & Mirocha (1986) verificaram que os fungos *Aspergillus* sp., *Mucor* sp. e *Fusarium* podem sobreviver por até 13 anos em sementes de milho em condição de baixa temperatura.

De acordo com Mycock & Berjak (1995), os fungos de armazenamento são os mais comuns e destrutivos agentes de deterioração e, de acordo com dados

da FAO, aproximadamente 5% dos cereais armazenados no mundo são deteriorados pela ação desses microrganismos, sendo que em alguns locais essa perda chega a atingir mais de 35% (Neergaard, 1977).

Esses fungos compreendem um grupo de microrganismos caracterizado pela sua habilidade comum em crescer em tecidos relativamente secos de sementes e embora ocorram outros gêneros, os mais comuns são *Aspergillus* e *Penicillium*. Segundo Wetzel (1987), esses fungos são adaptados a ambientes com umidade relativa do ar entre 60 e 90% e se desenvolvem numa vasta faixa de temperatura, sendo que o ideal, para sementes amiláceas, está entre 25 a 30°C. Para Bewley & Black (1994), esses microrganismos dificilmente se desenvolvem em sementes em equilíbrio com umidade relativa do ambiente abaixo de 68%. Portanto não seriam responsáveis por deterioração de sementes amiláceas com grau de umidade abaixo de 13%. Já, para Harrington (1972), esses fungos podem crescer ativamente em sementes amiláceas com teor de água acima de 10%. Anderson & Baker (1983) propuseram que 13,5% seria o limite de umidade acima do qual tais sementes seriam afetadas em sua qualidade pelos fungos de armazenamento. Para Mycock & Berjak (1995), entretanto, esses fungos são saprófitas e oportunistas e podem tornar-se metabolicamente ativos mesmo em sementes com umidade próxima de 13%.

Para Smith e White (1988), a incidência e a severidade dos fungos de armazenamento é dependente da temperatura do armazém, da umidade da semente, das espécies de fungos presentes, do nível de infecção na pré-colheita e dos danos mecânicos ocorridos. Segundo esses autores, em condições favoráveis de temperatura, o fungo *Aspergillus* sp. pode crescer em sementes com teor de água abaixo de 13,5%, enquanto *Penicillium* sp., necessita de um grau de umidade acima de 16,5%.

O teor de água da semente restringe a proliferação de fungos específicos de armazenamento, sendo considerado por vários autores como o principal fator determinante na sucessão de espécies fúngicas (Welty & Christensen, 1963; Christensen, 1966 citados por Mycock & Berjak, 1995 e Qasem & Christensen, 1958 e 1960; Christensen & Kaufman, 1969 e 1974 e Dhingra, 1985). De acordo com Christensen & Kaufman (1969, 1974), dependendo do teor de água, uma sucessão de espécies de *Aspergillus* é manifestada e é sucedida por *Penicillium* spp. Assim, a sucessão seria a seguinte: *Aspergillus restrictus* (umidade da semente de 13 - 13,5%); *A. glaucus* (14 - 14,5%); *A. vesicolor* (14,2 - 15%); *A. ochraceus* (15 - 15,5%); *A. candidus* (15 - 15,5%); *A. flavus* ou *A. parasiticus* (17 - 18,5%); *Penicillium* spp. (> 18,5%).

Comparando o efeito de várias espécies de *Aspergillus* na germinação da semente, Mycock & Berjak (1995) concluíram que espécies mais xerotolerantes, tais como, *A. restrictus*, causam menor dano do que aquelas espécies que requerem um teor de água relativamente alto, como *A. flavus*, e que a duração da dominância de espécie é um fator importante para o grau de deterioração da semente. A atividade metabólica das espécies mais xerotolerantes que iniciam a sucessão aumentam o grau de umidade e temperatura da semente, de modo que os fungos menos xerotolerantes, porém mais agressivos, possam se estabelecer.

Segundo Pereira (1986), os microrganismos mais frequentemente encontrados em sementes de milho são *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. No entanto, merece destaque também o *Fusarium moniliforme*, pela frequência e incidência com que ocorre (Richardson, 1979). Esse fungo está comumente associado ao apodrecimento de sementes de milho (Shurtleff, 1986), podendo interferir na qualidade fisiológica das sementes e prejudicar o estande no campo (Djakamihardja *et al.*, 1970), sendo o tratamento com fungicidas uma das medidas recomendadas para o controle desse patógeno (Goulart & Fialho, 1999).

2.5 Tratamento fungicida

O tratamento de sementes com fungicidas tem como objetivos básicos controlar os fungos associados às sementes e protegê-las contra aqueles presentes no solo (Neergard, 1977; Pereira, 1986; Mentem, 1991; Casa et al., 1995; Pinto, 1998a; Machado, 1999).

Segundo Machado (1999), a qualidade física e fisiológica das sementes pode influenciar o desempenho do tratamento químico. Assim, sementes danificadas são mais vulneráveis à ação fitotóxica dos produtos utilizados no tratamento de sementes e, dependendo do tipo e localização dos danos, os prejuízos causados pelo tratamento químico podem ser maiores para a qualidade fisiológica das sementes do que o efeito benéfico de proteção contra a ação dos microrganismos. De maneira geral, sementes portadoras de patógenos, apresentando baixos percentuais de germinação e alto potencial de vigor, respondem melhor ao tratamento químico.

Atualmente o uso de fungicidas em sementes de milho é de suma importância, especialmente quando essas se destinam a semeaduras em solos com baixas temperaturas e/ou condições que retardam a germinação das sementes (Pereira, 1986).

De modo geral, a literatura relata que os fungicidas sistêmicos do grupo dos benzimidazóis, como o thiabendazole, são altamente efetivos no controle de espécies do gênero *Fusarium* (Marsh, 1982). Para o controle de *Fusarium*, Pinto (1997 e 1998b), revelou serem eficientes os fungicidas captan, thiram e a mistura de thiabendazole + thiram.

Goulart & Fialho (1999), comparando resultados de diversos fungicidas e misturas, encontraram os melhores resultados de controle de *Fusarium* e

emergência de plantas quando foram utilizados thiabendazole, thiabendazole + captan, thiabendazole + thiram, tolyfluanid e tolyfluanid + carbendazin.

Resultados obtidos por Denucci *et al.* (1990); Patrício *et al.* (1990); Henning *et al.* (1993); Goulart (1993); Goulart & Fialho (1994); Goulart & Fialho (1999) demonstraram efeito significativo do tratamento com fungicidas na emergência de plântulas de milho.

Wilson Jr. *et al.* (1993) também verificaram aumentos significativos na emergência quando as sementes de milho foram tratadas com fungicidas, sendo que, em geral, os melhores resultados foram obtidos com misturas de fungicidas protetores, como o thiram, com sistêmicos de amplo espectro, como por exemplo, o thiabendazole. Por outro lado, em trabalhos realizados com a mesma espécie, Naik *et al.* (1982); Choudhury (1984) e Pinto (1997 e 1998b) não encontraram nenhum efeito do tratamento com fungicidas nos resultados de emergência em campo.

A resposta ao tratamento fungicida varia de acordo com a espécie e a localização do patógeno alvo e forma de aplicação do fungicida (Menten, 1991). Varia ainda de acordo com a cultivar (Djakamihardja *et al.*, 1970) e com o vigor das sementes (Machado, 1999). Sementes de alto vigor apresentam pequenas respostas ao tratamento fungicida e sementes submetidas a condições favoráveis à rápida germinação e emergência de plântulas podem não apresentar respostas ao tratamento. No entanto, sob condições desfavoráveis, a resposta ao tratamento com fungicidas é maior (Pinto, 1996; Von Pinho *et al.*, 1995; Fialho, 1997).

Em vista do apresentado, torna-se relevante um estudo sobre a interferência de danificação mecânica e tratamento fungicida na qualidade fisiológica de sementes de milho armazenadas sob diferentes condições.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes e no Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG. Foram utilizadas sementes de milho da safra 1997/1998, dos híbridos Ag-122, um híbrido duplo, precoce (864UC), porte médio, de grão semidentado amarelo, peneira 24, produzidas pela Empresa de Sementes Agroceres e C-901, um híbrido simples superprecoce (790UC), porte baixo de grão semidentado amarelo, peneira 20, produzidas pela Cargill.

3.1 Caracterização inicial da qualidade das sementes

3.1.1 Umidade

A determinação do grau de umidade foi efetuada pelo método da estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, com duas repetições, de acordo com as prescrições das Regras Para Análise de Sementes (RAS)(Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.2 Danos mecânicos

A identificação de sementes danificadas foi efetuada com quatro repetições de 100 sementes, que foram imersas em solução do corante *Amaranthus* a 0,1%, durante 2 minutos e, em seguida lavadas em água corrente. A avaliação foi feita quanto à presença e grau de danos, em função do desenvolvimento de áreas coloridas, bem como do local e extensão dessas áreas. Os danos foram classificados em graves, médios e leves, segundo Vieira *et al.* (1999). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.3 Exame de sementes infestadas

Duas repetições de 100 sementes foram imersas em água por 24 horas. Após esse período, foi feito o exame individual de sementes, por meio de corte longitudinal. Observou-se a presença de inseto adulto, pupa, larva, lagarta, ovo ou orifício provocado pelo inseto, de acordo com recomendação das RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.4 Primeira contagem e germinação

Os testes foram realizados com quatro repetições de 50 sementes, semeadas no sistema de rolo de papel umidecido com 2,5 vezes o peso do papel em água e mantidas em germinador à temperatura constante de 25°C. A primeira contagem e a de germinação foram realizadas no quarto e no sétimo dia após a instalação do teste. As avaliações foram conduzidas de acordo com os critérios estabelecidos pelas RAS (Brasil, 1992) e os resultados expressos em porcentagem.

3.1.5 Emergência em canteiro

Efetuada em canteiro contendo uma mistura de areia e terra na proporção de 1:1, previamente desinfestada com brometo de metila. Duas repetições de 50 sementes foram semeadas manualmente, em linhas de um metro de comprimento à profundidade de três centímetros. Foram efetuadas regas diárias. Anotou-se o número de plântulas emergidas, com mais de dois centímetros, aos 21 dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem.

A caracterização inicial dos lotes de sementes está descrita na Tabela 1.

TABELA 1 Caracterização inicial de primeira contagem (PC), germinação (G), emergência (E), infestação (I), umidade (U) e danos mecânicos, dos lotes de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, utilizadas no experimento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Híbrido	PC (%)	G (%)	E (%)	I (%)	U (%)	Sementes com dano mecânico (%)			
						Grave	Médio	Leve	Total
Ag - 122	93	96	92	0,5	11,4	8,0	4,5	5,8	18,3
C - 901	98	99	99	1,0	10,5	5,5	13,3	9,8	28,5

3.1.6 Teste de sanidade

O teste de sanidade foi efetuado pelo método do papel de filtro com congelamento, conforme Neergaard (1977), com oito repetições de 25 sementes, sendo que em metade delas, as sementes foram submetidas à desinfestação superficial por meio de imersão em hipoclorito de sódio a 2% por um minuto. As sementes foram acondicionadas em placas de Petri com 15 cm de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro previamente umedecido em água destilada e esterilizada. Em seguida, essas foram incubadas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, sob um regime de alternância de luz negra e escuro, em ciclos de 12 horas. Após as primeiras 24 horas de incubação, as sementes foram levadas ao congelamento, no qual foram mantidas numa temperatura de $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas e posteriormente colocadas no ambiente de incubação até completar 7 dias. A identificação dos patógenos foi efetuada em sementes individuais, com auxílio de microscópio estereoscópico e quando necessário, de microscópio composto. Os resultados foram expressos em porcentagem de incidência dos fungos nas sementes e estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 Qualidade sanitária inicial, em porcentagem, dos lotes de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND). UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Ag-122		C-901	
	ND (%)	D (%)	ND (%)	D (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	1,5	0,0	4,0	0,0
<i>Penicillium</i> sp.	99,5	14,5	43,0	24,0
<i>Fusarium</i> sp.	94,0	72,0	65,5	41,5
<i>Cephalosporium</i>	7,5	4,0	21,0	27,5

3.2 Tratamentos

As sementes dos dois híbridos foram separadas com auxílio de lupa (aumento 10x), em dois lotes com diferentes níveis de danos: um de sementes sem dano mecânico visível (Dano 1) e outro com uma porcentagem de dano mecânico visível (Dano 2), relacionados na Tabela 3.

TABELA 3 Porcentagens de danos mecânicos nas sementes após classificação visual das sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Nível de dano (%)	Híbridos			
	Ag-122		C-901	
	Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2
Grave	2,4	19,9	0,5	5,5
Médio	8,8	22,3	11,6	16,8
Leve	11,9	17,6	15,4	18,1
Total	23,0	59,8	27,5	40,4

Médias de 16 repetições de 100 sementes

Em seguida, cada lote recebeu tratamento com inseticida K-obiol (33cc/ton) e Actellic (33cc/ton). Esses lotes foram novamente divididos em duas partes, uma não recebeu tratamento fungicida enquanto a outra recebeu tratamento com fungicida thiabendazole (240g ia/100kg de sementes) + thiram (105g ia/100kg de sementes). Para cada tratamento foram efetuadas quatro repetições. De cada repetição, uma parte das sementes foi separada para avaliações no tempo zero, ou seja, antes de iniciar o armazenamento. A outra parte foi dividida novamente em duas, embaladas em papel multifoliado, em que metade foi levada ao armazenamento convencional, sem controle de temperatura e umidade, porém monitorado por termohigrógrafo (Figura 1A) e a outra metade foi armazenada em câmara fria a 10°C e umidade relativa de 50%. Após 12 meses de armazenamento, as sementes foram transferidas ao laboratório e submetidas às avaliações de qualidade.

3.3 Avaliações

3.3.1 Umidade

A determinação do grau de umidade foi efetuada como descrito no item 3.1.1, com duas repetições e de acordo com as prescrições das RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.3.2 Primeira contagem e germinação

Os testes de primeira contagem e germinação foram efetuados como descrito no item 3.1.4, com duas repetições de 50 sementes.

3.3.3 T-50

Efetuada em conjunto com o teste de germinação. Foram realizadas contagens diárias e calculado o tempo necessário para que ocorresse a germinação de 50% do total de sementes germinadas. Os resultados foram expressos em número de dias.

3.3.4 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com duas repetições de 50 sementes, semeadas em caixas plásticas (60x30x10cm) contendo uma mistura de areia e solo proveniente de área cultivada com milho, na proporção de 2:1. Ao substrato foi adicionada água até atingir 60% da capacidade de campo. Após a semeadura, as caixas foram vedadas e levadas para câmara fria a 10°C, onde permaneceram por sete dias e, posteriormente, foram abertas e levadas à câmara de crescimento a 25°C por mais sete dias, quando foi calculada a porcentagem de plântulas emergidas.

3.3.5 Teste de tetrazólio (viabilidade, vigor e nota média)

As sementes foram pré-condicionadas em água por 16 horas a 25°C. Após esse período, foram seccionadas longitudinalmente e imersas em solução de 2,3,5 cloreto de trifetil tetrazólio a 0,075%, permanecendo nessa solução por um período de quatro horas a 25°C, em ambiente escuro. Em seguida, foram lavadas em água corrente e submetidas à avaliação em microscópio estereoscópico, quando foram atribuídas notas de um a oito às sementes individualmente. Foram atribuídas notas de 1 a 8, segundo critérios recomendados por Moore (1985), nos quais os valores de 1 a 3 foram atribuídos a sementes vigorosas, de 1 a 5 a sementes viáveis e acima de 5 a sementes inviáveis. A nota média foi calculada

pela média aritmética das notas individuais de cada uma das 50 sementes da repetição.

3.3.6 Teste de condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica foi efetuado em todos os períodos de avaliação, com quatro repetições de 25 sementes, que foram pesadas em balança com precisão de 0,01g. As sementes foram colocadas em copos plásticos contendo 75ml de água deionizada e mantidas em ambiente com temperatura constante de 25°C por 24 horas, quando então, foram efetuadas as leituras de condutividade elétrica da solução, em condutivímetro marca Digimed modelo CD 21A. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$ de sementes.

3.3.7 Emergência em canteiro

Efetuada como em 3.1.5.

3.3.8 Índice de velocidade de emergência (IVE)

No teste de emergência em canteiro, foi anotado diariamente, até a estabilização do estande, o número de plântulas emergidas que tinham mais de dois centímetros. O IVE foi calculado de acordo com os critérios estabelecidos por Maguire (1962).

3.3.9 Teste de sanidade

O teste de sanidade foi efetuado como descrito para caracterização inicial, item 3.1.6, com quatro repetições de 25 sementes desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio e com outras quatro repetições de 25 sementes não desinfestadas. Os resultados foram expressos em porcentagem de incidência de fungos.

3.4 Procedimento estatístico

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial ($2 \times 2 \times 2$), duas condições de armazenamento (ambiente e câmara), dois níveis de dano mecânico (dan0 e 2), sem e com tratamento fungicida, com parcela subdividida no tempo, em dois períodos de armazenamento (zero e 12 meses) e com quatro repetições.

Os dados de cada híbrido foram submetidos à análise de variância. A comparação entre médias foi efetuada pelo teste de Tukey ao nível de 95% e 99% de significância. Dados de incidência de fungos (x), em porcentagem, foram transformados em raiz quadrada de x .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De uma maneira geral, os testes utilizados para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de milho do híbrido Ag-122 detectaram influência significativa das condições de armazenamento, nível de dano mecânico, tratamento fungicida e tempo de armazenamento (Tabela 3A). À exceção dos demais, o teste T-50 não detectou alterações significativas na qualidade fisiológica em função do nível de dano mecânico, assim como os de germinação e tetrazólio-viabilidade, vigor e nota média, em função do tratamento fungicida. Provavelmente isso ocorreu em função de terem sido considerados nessas avaliações os resultados médios do início e final do armazenamento (12 meses); o que de certa forma pode ter influenciado os resultados dos testes menos sensíveis, influência essa relativa aos altos valores da qualidade inicial das sementes, acima de 92% (Tabela 1).

Para o híbrido C-901, os testes utilizados, de modo geral, também detectaram que a qualidade fisiológica das sementes foi influenciada significativamente pelas condições de armazenamento, nível de dano mecânico, tratamento fungicida e tempo de armazenamento. Apesar de os demais testes terem detectado diferenças altamente significativas na qualidade fisiológica das sementes, em função do nível de danos mecânicos, os testes de primeira contagem e T-50 não detectaram diferenças significativas desse parâmetro sobre a qualidade fisiológica das sementes (Tabela 4A). Como esses testes têm por base a velocidade de germinação, seria de se esperar que sementes com menor nível de dano mecânico apresentassem maiores valores, já que sementes danificadas gastam tempo e energia na restauração de tecidos afetados pela danificação, retardando a germinação conforme já referido por Fagundes *et al.* (1972); Moore (1972); Delouche (1976); Rocha *et al.* (1984); Bewley & Black (1985); Popinigis

(1985); Carvalho (1986); Carvalho & Nakagawa (1988); Andrade & Borba (1993); Peterson *et al.* (1995). Como mencionado anteriormente, por terem sido considerados resultados médios, do início e final de armazenamento (12 meses), provavelmente a influência de outros fatores nos resultados iniciais, a exemplo de um possível efeito fitotóxico dos fungicidas utilizados, impossibilitou a detecção de diferenças significativas nos resultados médios. Vale ressaltar que esses testes detectaram diferenças altamente significativas para período de armazenamento. Os testes de tetrazólio-vigor, tetrazólio-nota média, emergência e T-50 não detectaram diferenças significativas na qualidade das sementes em função do tratamento fungicida (Tabela 4A). Observou-se, no entanto, que o teste de frio, que é executado sob condições iniciais desfavoráveis à emergência das sementes e favoráveis a organismos, especialmente *Fusarium*, detectou efeito benéfico altamente significativo do tratamento fungicida, menor nível de dano mecânico e ainda a interação significativa entre esses sobre a qualidade fisiológica das sementes de ambos os híbridos (Tabelas 3A e 4A). Esses resultados estão de acordo com relatos de Pinto (1996); Von Pinho (1995) e Fialho (1997), segundo os quais, sob condições desfavoráveis à emergência das plântulas, a resposta ao tratamento fungicida é maior.

O teor de água detectado nas sementes, durante o período de armazenamento, tanto nas condições de ambiente quanto em condições controladas, mantiveram-se semelhantes até o terceiro mês, mas a partir daí, foi reduzido gradualmente sob condições controladas, até atingir no final de 12 meses, um teor em torno de 9%; ao passo que, sob condição ambiente, o grau de umidade apresentou oscilações, atingindo no final de 12 meses, um valor em torno de 11% (Figura 2A). O grau de umidade das sementes é resultante do equilíbrio com a umidade relativa do ambiente. Nas condições ambiente, a temperatura e a umidade relativa, além de oscilarem ao longo do período de

armazenamento (Figura 1A), mantiveram-se sempre acima dos valores mantidos no ambiente controlado (10°C e 50% UR). Provavelmente, essa oscilação causou prejuízo à qualidade das sementes armazenadas sob condições ambiente, como já mencionado por Bewley & Black (1994). Esses resultados vêm corroborar os relatos de Harrington (1972); Mora & Echandi (1976); Côme (1983); Prasad & Pathak (1987); Maeda *et al.* (1987); Freitas (1992).

Apenas os testes de primeira contagem, germinação e tetrazólio-viabilidade, para o híbrido Ag-122 (Tabela 3A) e os de tetrazólio-viabilidade, IVE e emergência, para o híbrido C-901 (Tabela 4A), detectaram significância para a interação condição de armazenamento e nível de dano, sobre a qualidade fisiológica das sementes.

Pelos resultados contidos na Tabela 4, observou-se que nas duas condições de armazenamento, sementes do híbrido Ag-122, com menor incidência de dano (1) apresentavam-se com maior germinação potencial (Tz-va) e vigor pelo teste de primeira contagem do que aquelas com maior incidência de danos (2). Já o teste de germinação detectou diferença significativa para nível de dano, apenas para sementes armazenadas sob condições ambiente. Vale ressaltar, no entanto, que as sementes armazenadas sob condições de temperatura e umidade relativa controladas, apresentaram qualidade fisiológica estatisticamente superior à daquelas armazenadas sob condições ambiente. Em termos numéricos, observou-se que, enquanto a queda no percentual de germinação, detectada pelos três testes acima referidos, foi da ordem de 10%, das sementes com maior incidência de danos (2), em relação às de menor incidência (1), quando armazenadas sob condições ambiente; essa queda, para sementes armazenadas sob condições controladas, foi em média de 4%. Dessa forma, quando se considera que o padrão de germinação mínimo para comercialização de sementes de milho é de 85%, as sementes do híbrido Ag-122, que apresentavam incidência

maior de danos (2), armazenadas sob condições ambiente, não poderiam ser comercializadas. Esses resultados reforçam os encontrados na literatura que relatam que durante o armazenamento, as sementes injuriadas sofrem redução na germinação e no vigor, com reflexos negativos no potencial de armazenamento (Fagundes *et al.*, 1972; Moore, 1972; Delouche, 1976; Rocha *et al.*, 1984; Bewley & Black, 1985; Popinigis, 1985; Carvalho, 1986; Carvalho & Nakagawa, 1988; Andrade & Borba, 1993; Peterson *et al.*, 1995).

TABELA 4 Valores médios de primeira contagem (PC), germinação (G), tetrazólio-viabilidade (Tz-va) de sementes de milho do híbrido Ag-122 e emergência (E), do híbrido C-901, com dois níveis de dano mecânico, sob diferentes condições de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro	Nível de Dano	Ag-122	
		Ambiente	Câmara
PC (%)	1	83 Ba	95 Aa
	2	71 Bb	92 Ab
G (%)	1	88 Ba	94 Aa
	2	78 Bb	92 Aa
Tz-va (%)	1	90 Ba	98 Aa
	2	81 Bb	92 Ab
Parâmetro	Nível de Dano	C-901	
		Ambiente	Câmara
Tz-va (%)	1	91 Ba	99 Aa
	2	85 Bb	97 Aa
IVE	1	10,72 Ba	12,35 Aa
	2	10,21 Bb	12,13 Ab
E (%)	1	90 Ba	99 Aa
	2	85 Bb	98 Ab

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

No híbrido C-901, também foi detectada superioridade das sementes com nível de dano 1, em relação às de nível de dano 2, nas duas condições de armazenamento, pelos testes de IVE e emergência, e apenas na condições ambiente pelo de terazólio-viabilidade, ressaltando-se que nas sementes armazenadas sob condições controladas detectou-se qualidade fisiológica significativamente superior à daquelas armazenadas sob condições ambiente. Como já mencionado por Bunch (1962); Copeland (1972); Moore (1972); Toledo e Marcos Filho (1977); Silva (1983); Rocha *et al.* (1984); Popinigis (1985); Carvalho & Nakagawa (1988); Mantovani & Fontes (1989); Jahufer & Borovoi (1992); Ng *et al.* (1995) e Smith & Berjak (1995), vários fatores, especialmente físicos e biológicos, interrelacionados, podem contribuir para que o processo de deterioração de sementes se instale e se acentue, quando a barreira natural de proteção da semente de milho, o pericarpo, se rompe, resultando inclusive, numa maior susceptibilidade de sementes danificadas a microrganismos, pois as trincas no pericarpo são portas de entrada, especialmente para fungos.

Como pode ser visto na Tabela 5, a incidência de fungos, em sementes do híbrido C-901, foi semelhante para os dois níveis de dano mecânico. Entretanto, no híbrido Ag-122, verificou-se, de modo geral, maior incidência de fungos nas sementes com maior nível de dano (2), quando armazenadas sob condições ambiente. Para sementes armazenadas sob condições controladas, além de a incidência dos fungos ser semelhante nos dois níveis de danos, observou-se que nessas condições, a incidência de *Aspergillus* sp. foi nula. Provavelmente, isso aconteceu em função de as condições em que as sementes foram armazenadas (10°C e 50%UR) terem desfavorecido a proliferação desses organismos, pois de acordo com Wetzel (1987), esses fungos são adaptados a ambientes com umidade relativa do ar entre 60 e 90%, e se desenvolvem numa vasta faixa de temperatura, sendo que a ideal, para sementes amiláceas, está entre 25 a 30°C.

TABELA 5 Valores percentuais de incidência de fungos nas sementes de milho, sem e com desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND), dos híbridos Ag-122 e C-901, com dois níveis de dano mecânico, sob diferentes condições de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Nível de Dano	Ag-122		C-901	
			Ambiente	Câmara	Ambiente	Câmara
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	1	22	13	16	11
		2	33	22	17	12
	D	1	17	5	13	5
		2	22	6	9	5
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	1	28	24	12	11
		2	30	25	13	13
	D	1	39	38	21	16
		2	43	38	22	17
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	1	9	2	15	13
		2	11	1	7	9
	D	1	11	0	3	0
		2	16	0	3	1

Resultados sem análise estatística.

Os resultados de maior incidência de fungos, encontrada em sementes com maior nível de dano, estão em conformidade com Bunch (1962); Toledo e Marcos Filho (1977); Berry *et al.* (1990); Rocha *et al.* (1994); Ng *et al.* (1995) e Smith & Berjak (1995). De acordo com esses autores, a presença de injúrias favorece a um maior desenvolvimento de fungos no armazenamento. Observou-se ainda (Tabela 5) que para todos os fungos, em ambos os híbridos e níveis de danos, foram detectadas maiores incidências na condição ambiente de armazenamento. Esse fato, provavelmente, foi um dos fatores que contribuíram para a qualidade fisiológica superior das sementes armazenadas sob condições controladas.

[REDACTED]

Os testes IVE, emergência e de frio, para as sementes do híbrido Ag-122 (Tabela 3A) e tetrazólio-viabilidade, IVE, emergência e teste de frio, para as do híbrido C-901 (Tabela 4A), detectaram significância para a interação condição de armazenamento x tratamento fungicida.

Pelos resultados apresentados na Tabela 6, observou-se que o armazenamento sob condições controladas, preservou a qualidade fisiológica das sementes de forma significativamente superior ao armazenamento sob condições ambiente. Notou-se ainda que nas duas condições de armazenamento, nas sementes do híbrido Ag-122, que foram submetidas ao tratamento fungicida, detectou-se maior vigor pelo teste de IVE e maior percentual de emergência, mas com maior resposta ao tratamento fungicida nas condições de ambiente.

Já nas sementes do híbrido C-901, submetidas ao tratamento fungicida, foram observadas diferenças em função das condições em que foram armazenadas. Assim é que, quando armazenadas sob condições controladas, apenas o teste de frio detectou diferença significativa sobre a qualidade das sementes em função do tratamento, ou seja, enquanto nas sementes submetidas ao tratamento fungicida constatou-se uma germinação de 95%, após o estresse de frio e alta umidade, a germinação das sementes não tratadas foi de apenas 62%.

No armazenamento sob condições de ambiente, nas sementes submetidas ao tratamento fungicida foram detectados emergência e vigor (teste de frio e IVE) significativamente superiores às não tratadas. Vale ressaltar, no entanto, que nas sementes tratadas com fungicida, quando armazenadas sob condições ambiente e submetidas, por ocasião da semeadura a um estresse de frio e alta umidade (teste de frio) detectou-se germinação similar (68%) a das não tratadas e armazenadas sob condições controladas (62%). O teste de frio, por ser um teste que favorece o desenvolvimento fúngico, principalmente de *Fusarium*, e o retardamento da germinação, foi capaz de detectar a melhor qualidade das sementes tratadas em

relação às não tratadas, nas duas condições de armazenamento utilizadas, conforme relatos de Von Pinho (1995); Pinto (1996) e Fialho (1997).

TABELA 6 Valores médios dos testes de índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência (E) de sementes de milho do híbrido Ag-122 e tetrazólio-viabilidade (Tz-va), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E) e de frio (TF) do híbrido C-901, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida e submetidas a diferentes condições de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro	Tratamento Fungicida	Ag-122	
		Ambiente	Câmara
IVE	NT	10,03 Bb	11,80 Ab
	T	10,98 Ba	12,02 Aa
E (%)	NT	82 Bb	95 Ab
	T	90 Ba	97 Aa
Parâmetro	Tratamento Fungicida	C-901	
		Ambiente	Câmara
Tz-va (%)	NT	91 Ba	99 Aa
	T	86 Bb	98 Aa
IVE	NT	10,26 Bb	12,26 Aa
	T	10,67 Ba	12,22 Aa
E (%)	NT	86 Bb	99 Aa
	T	89 Ba	98 Aa
TF (%)	NT	27 Bb	62 Ab
	T	68 Ba	95 Aa

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Nos testes de IVE e emergência (Tabela 6), a qualidade superior de sementes tratadas foi detectada apenas na condição ambiente de armazenamento. Nas condições controladas, além da redução do índice de incidência dos fungos, provavelmente em função das condições de baixa temperatura e umidade relativa serem impróprios ao desenvolvimento desses organismos, como mencionado por Bewley & Black (1994) e Wetzal (1997), também a condição em que esses testes foram desenvolvidos, não desfavoreceu a germinação das sementes e conseqüentemente desfavoreceu a ação de organismos, a exemplo do *Fusarium*, conforme mencionado por Von Pinho (1995); Pinto (1996) e Fialho (1997). Nas condições ambiente de armazenamento, onde a temperatura e umidade relativa foram mais elevadas (Figura 1A) e com oscilações que, segundo Pereira (1992), favorece o desenvolvimento de microrganismos que causam prejuízo à qualidade fisiológica das sementes, foi detectada a qualidade inferior das sementes sem fungicida pelos testes de IVE, emergência e teste frio, nos dois híbridos.

Pelos resultados apresentados na Tabela 7, notou-se que as incidências dos fungos, em sementes tratadas com fungicida, tanto para o híbrido Ag-122, quanto para o híbrido C-901, foram praticamente nulas, em ambas condições de armazenamento, o que demonstra a eficiência do tratamento com a mistura fungicida de thiabendazole + thiram no controle de fungos em sementes de milho. Esses resultados corroboram os de Marsh (1982), para o fungicida thiram e Pinto (1997 e 1998b) e Goulart & Fialho (1999), para thiram e a mistura de thiabendazole + thiram.

TABELA 7 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND) superficialmente, dos híbridos Ag-122 e C-901, tratadas (T) ou não tratadas (NT) com fungicida e armazenadas sob condições diferentes. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tratamento Fungicida	Ag-122		C-901	
			Ambiente	Câmara	Ambiente	Câmara
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	NT	55	36	32	23
		T	0	0	0	0
	D	NT	40	11	21	10
		T	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	NT	58	49	26	24
		T	0	0	0	0
	D	NT	79	74	43	33
		T	3	3	0	0
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	NT	20	4	22	22
		T	0	0	0	0
	D	NT	27	1	6	1
		T	0	0	0	0

Resultados sem análise estatística.

Em relação à interferência da interação significativa, nível de dano mecânico e tratamento fungicida, detectada pelo teste de frio (Tabela 3A) e pelos testes de tetrazólio-viabilidade e vigor (Tabela 4A) na qualidade fisiológica das sementes dos híbridos Ag-122 e C-901, observou-se que, apesar de nas sementes com menor incidência de danos (1) ter-se constatado maior vigor do que naquelas com maior nível de danos (2), o tratamento fungicida foi eficiente em preservar o vigor das sementes do híbrido Ag-122, em ambos os níveis de danos (Tabela 8).

TABELA 8 Valores médios dos testes de frio (TF) de sementes de milho do híbrido Ag-122 e de tetrazólio-viabilidade (Tz-va) e tetrazólio-vigor (Tz-vg) do híbrido C-901, com dois níveis de dano mecânico, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro	Tratamento Fungicida	Ag-122	
		Dano 1	Dano 2
TF (%)	NT	34 Ab	23 Bb
	T	83 Aa	78 Ba
Parâmetro	Tratamento Fungicida	C-901	
		Dano 1	Dano 2
Tz-va (%)	NT	96 Aa	94 Aa
	T	94 Aa	89 Bb
Tz-vg (%)	NT	67 Ab	66 Aa
	T	71 Aa	65 Ba

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na vertical e maiúscula, na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Por outro lado, os testes de tetrazólio-viabilidade e vigor não detectaram diferenças significativas na qualidade fisiológica de sementes do híbrido C-901, de diferentes níveis de danos, quando não submetidas ao tratamento fungicida. No entanto, sementes com menor incidência de danos (1) não diferiram significativamente em relação ao potencial de viabilidade, em função do tratamento fungicida, porém, constatou-se nessas um vigor potencial significativamente maior que aquelas que não sofreram tratamento fungicida. Já, as sementes do híbrido C-901, com maior nível de incidência de danos (2) foi detectado um percentual de germinação potencial pelo teste de tetrazólio significativamente maior quando não foram submetidas ao tratamento fungicida. Esses resultados estão de acordo com relatos na literatura sobre a maior

sensibilidade de sementes injuriadas a danos químicos durante o tratamento com defensivos (Copeland, 1972; Moore, 1972; Silva, 1983; Rocha *et al.*, 1984; Popinigis, 1985; Carvalho & Nakagawa, 1988; Jahufer & Borovoi, 1992; Machado, 1999). Por outro lado, não foram detectadas diferenças significativas no vigor potencial entre sementes do híbrido C-901, com nível 2 de danos mecânicos, em função do tratamento fungicida. Vale ressaltar, no entanto, que em sementes, com nível 2 de danos, detectou-se um vigor potencial, independente de terem sido ou não submetidas ao tratamento fungicida, similar ao daquelas de nível 1 de danos, não tratadas, ou seja, em torno de 66%; o que equivale a um valor $\pm 5\%$ menor que as de nível 1, submetidas ao tratamento fungicida.

Notou-se pelos resultados contidos na Tabela 9, que o tratamento fungicida exerceu um controle efetivo dos fungos nas sementes, independente do nível de dano. Esses resultados estão em concordância com os de Pinto (1997 e 1998b) e Goulart & Fialho (1999). Vale ressaltar que as incidências de *Fusarium* sp., detectadas pelo teste de papel de filtro com desinfestação superficial de hipoclorito de sódio, em ambos os híbridos, foram maiores do que as detectadas pelo teste sem desinfestação, mostrando que o fungo estava localizado internamente nas sementes.

Interação tripla significativa período, condição de armazenamento e nível de dano mecânico (TxAxD), foi detectada pelos testes de primeira contagem, germinação e tetrazólio-viabilidade, sobre a qualidade fisiológica das sementes do híbrido Ag-122 (Tabela 5A) e pelos de tetrazólio-viabilidade, IVE e emergência, na qualidade fisiológica das sementes do híbrido C-901 (Tabela 4A).

TABELA 9 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND) superficialmente, dos híbridos Ag-122 e C-901, com dois níveis de dano mecânico, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tratamento Fungicida	Ag-122		C-901	
			Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	NT	35	56	27	28
		T	0	0	0	0
	D	NT	22	28	18	14
		T	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	NT	52	54	24	26
		T	0	0	0	0
	D	NT	77	76	37	38
		T	0	5	0	0
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	NT	12	12	28	16
		T	0	0	0	0
	D	NT	11	16	3	4
		T	0	0	0	0

Resultados sem análise estatística.

Nos dois híbridos avaliados, observaram-se, nas sementes com maior nível de dano, valores significativamente inferiores de vigor em relação às daquelas com menor nível de dano, após 12 meses de armazenamento sob condições ambiente (Tabela 10). Esses resultados corroboram os relatos de Fiscus *et al.* (1971); Delouche (1976); Carvalho & Nakagawa (1988); Mantovani & Fontes (1989); Araújo (1995) e Oliveira (1997), segundo os quais danos mecânicos causam redução na qualidade fisiológica de sementes e de Puzzi (1989); Berry *et al.* (1990) e Oliveira (1997), que relataram redução no

potencial de armazenamento de sementes danificadas mecanicamente. Entretanto, essas reduções na qualidade das sementes do híbrido Ag-122, após o armazenamento sob condições controladas, só foram detectadas pelo teste de tetrazólio viabilidade. Os demais testes não detectaram superioridade significativa das sementes com menor nível de dano mecânico em relação às aquelas com maior nível, quando armazenadas sob condições controladas. Nas sementes do híbrido Ag-122 detectou-se, após 12 meses de armazenamento sob condições ambiente, um percentual de germinação de 80 e 62% para aquelas de nível 1 e 2 de danos. Porém, quando armazenadas sob condições controladas, esse percentual foi de 90%, independente do nível de dano. Para o híbrido C-901, essa superioridade das sementes de menor nível de danos, em relação à qualidade fisiológica, foi detectada, apenas após 12 meses de armazenamento, pelos testes de tetrazólio-viabilidade, IVE e emergência, independente da condição de armazenamento. Esses resultados estão de acordo com Carvalho & Nakagawa (1988), segundo os quais, não se pode esperar que sementes com incidência de danos mecânicos apresentem, após o armazenamento, um comportamento semelhante ao de sementes de alta qualidade. Vale ressaltar, no entanto, que sementes armazenadas sob condições de câmara apresentaram valores de emergência em torno de 19% (nível 1) e 25% (nível 2), superiores às aquelas armazenadas sob condições ambiente (Tabela 10).

TABELA 10 Valores médios de primeira contagem (PC), germinação (G), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), de sementes do híbrido Ag-122, e tetrazólio-viabilidade (Tz-va), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), do híbrido C-901, com dois níveis de dano mecânico, anteriormente e após 12 meses de armazenamento, sob diferentes condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.

		Ag-122			
Parâmetro Tempo		Ambiente		Câmara	
		Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2
PC (%)	Zero	97 Aa	93 Aa	97 Aa	93 Aa
	12 meses	68 Ab	49 Bb	92 Aa	90 Aa
G (%)	Zero	97 Aa	93 Aa	97 Aa	93 Aa
	12 meses	80 Ab	62 Bb	91 Ab	90 Aa
Tz-va (%)	Zero	98 Aa	91 Ba	98 Aa	91 Bb
	12 meses	82 Ab	71 Bb	98 Aa	94 Ba

		C-901			
Parâmetro Tempo		Ambiente		Câmara	
		Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2
Tz-va (%)	Zero	99 Aa	98 Aa	99 Aa	98 Aa
	12 meses	82 Ab	71 Bb	99 Aa	96 Ba
IVE	Zero	12,36 Aa	12,34 Aa	12,36 Aa	12,34 Aa
	12 meses	9,09 Ab	8,07 Bb	12,34 Aa	11,92 Bb
E (%)	Zero	99 Aa	99 Aa	99 Aa	99 Aa
	12 meses	80 Ab	71 Bb	99 Aa	96 Bb

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Observou-se pelos resultados apresentados na Tabela 11, que nas condições ambiente, houve aumento na incidência, principalmente de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., após o período de armazenamento, nos dois níveis de dano e em ambos os híbridos, apesar de no híbrido C-901, terem sido detectadas

incidências menores. Nas condições de ambiente controlado, além de esse aumento não ocorrer, ainda houve uma tendência de queda ao longo de 12 meses de armazenamento, principalmente para *Fusarium*, provavelmente por causa das condições de temperatura e umidade relativa da câmara (10°C e 50% UR), que desfavoreceram o desenvolvimento desses organismos, que segundo Wetzel (1987), são adaptados a ambientes com umidade relativa do ar entre 60 e 90%, e se desenvolvem numa vasta faixa de temperatura, sendo que o ideal, para sementes amiláceas, está entre 25 a 30°C.

TABELA 11 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND), em dois níveis de dano mecânico, em diferentes ambientes, anteriormente e após 12 meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tempo	Ag-122				C-901			
			Ambiente		Câmara		Ambiente		Câmara	
			Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	Zero	26	44	26	44	20	20	20	20
		12 meses	18	22	1	1	12	13	3	3
	D	Zero	6	7	6	7	9	7	9	7
		12 meses	29	38	5	4	16	11	1	3
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	Zero	32	35	32	35	21	24	22	24
		12 meses	25	24	16	15	4	3	0	1
	D	Zero	40	42	40	42	20	23	20	23
		12 meses	39	43	37	34	22	21	12	11
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	Zero	3	1	2	1	22	5	22	5
		12 meses	16	20	3	2	7	10	4	14
	D	Zero	0	0	0	0	0	1	0	0
		12 meses	21	32	1	1	5	6	1	1

Resultados sem análise estatística.

Os testes de IVE, emergência e de frio, nas sementes do híbrido Ag-122 (Tabela 3A) e os testes de tetrazólio-viabilidade, IVE, emergência e de frio, no híbrido C-901 (Tabela 4A), detectaram significância para a interação tripla entre tempo, condição de armazenamento e tratamento fungicida sobre a qualidade das sementes. Portanto, a interferência do tratamento fungicida na qualidade fisiológica das sementes foi dependente da condição e do tempo de armazenamento.

Observou-se, pelos resultados contidos na Tabela 12, que os testes de IVE e emergência, no tempo zero, nas duas condições de armazenamento, não detectaram diferenças na qualidade fisiológica das sementes do híbrido Ag-122, tratadas ou não com fungicida, enquanto o teste de frio detectou superioridade das sementes tratadas, em ambas as condições e tempos de armazenamento. Após 12 meses, nos dois ambientes, os testes de IVE e emergência, a exemplo do teste de frio, detectaram qualidade fisiológica superior de sementes tratadas. Esses resultados reforçam os de Denucci *et al.* (1990); Patrício *et al.* (1990); Henning *et al.* (1993); Goulart (1993); Wilson *et al.* (1993); Goulart & Fialho (1994); Goulart & Fialho (1999). Por outro lado, vão de encontro aos de Naik *et al.* (1982); Choudhury (1984) e Pinto (1997 e 1998b), que não encontraram efeito do tratamento fungicida na emergência em campo de sementes de milho. Também para o híbrido C-901, no início e nas duas condições de armazenamento, apenas o teste de frio detectou diferenças significativas na qualidade das sementes tratadas e não tratadas com fungicidas, sendo que nas sementes submetidas ao tratamento fungicida detectou-se vigor significativamente maior por esse teste em ambas as condições e períodos de armazenamento. Os testes de IVE e emergência detectaram superioridade das sementes tratadas apenas após 12 meses de armazenamento sob condições ambiente. Provavelmente, estes resultados foram devidos às condições inerentes aos testes. Dessa forma, sob condições em que

os fungos são favorecidos, especialmente *Fusarium* sp., no teste de frio, fica evidenciado o efeito benéfico do tratamento fungicida.

TABELA 12 Valores médios dos testes de índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E) e de frio (TF), para o híbrido Ag-122 e tetrazólio-viabilidade (Tz-va), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E) e teste de frio (TF) para o híbrido C-901, em duas condições de armazenamento, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida, no início e final de 12 meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro Tempo		Ag-122			
		Ambiente		Câmara	
		NT	T	NT	T
IVE	Zero	11,92 Aa	12,11 Aa	11,92 Aa	12,11 Aa
	12 meses	8,13 Bb	9,85 Ab	11,68 Bb	11,93 Aa
E (%)	Zero	96 Aa	98 Aa	96 Aa	98 Aa
	12 meses	68 Bb	83 Ab	94 Ba	96 Aa
TF (%)	Zero	15 Ba	90 Aa	15 Ba	90 Aa
	12 meses	16 Ba	50 Ab	69 Ba	92 Aa

Parâmetro Tempo		C-901			
		Ambiente		Câmara	
		NT	T	NT	T
Tz-va (%)	Zero	99 Aa	98 Aa	99 Aa	98 Aa
	12 meses	82 Ab	73 Bb	98 Aa	97 Aa
IVE	Zero	12,33 Aa	12,37 Aa	12,33 Aa	12,37 Aa
	12 meses	8,19 Bb	8,97 Ab	12,19 Aa	12,07 Ab
E (%)	Zero	99 Aa	99 Aa	99 Aa	99 Aa
	12 meses	73 Bb	78 Ab	98 Aa	97 Ab
TF (%)	Zero	35 Ba	96 Aa	35 Bb	96 Aa
	12 meses	18 Bb	40 Ab	89 Ba	95 Aa

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Pelos resultados apresentados na Tabela 13, observou-se, de modo geral, que para os dois híbridos, independente da condição de armazenamento, o tratamento fungicida foi eficaz no controle dos fungos em referência. Na condição ambiente, notou-se tendência de aumento na incidência dos fungos *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. e de *Aspergillus* spp., após 12 meses de armazenamento, nas sementes não submetidas ao tratamento fungicida. Por outro lado, sob condições de armazenamento controlado, verificou-se tendência de queda na incidência dos referidos organismos, após 12 meses de armazenamento, ressaltando-se, no entanto, que *Fusarium* foi o organismo menos afetado. Esses resultados reforçam os de Abbas & Mirocha (1986), que verificaram que *Fusarium* pode sobreviver por até 13 anos em sementes de milho, em condição de baixa temperatura.

Nas sementes do híbrido C-901, foi detectada interação tripla significativa entre período de armazenamento, nível de dano mecânico e tratamento fungicida (TxDxF) apenas pelo teste de germinação (Tabela 4A), ao passo que, nas do híbrido Ag-122, esta interação foi detectada como significativa pelos testes de tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor, tetrazólio-nota média, condutividade elétrica, IVE e emergência (Tabela 3A). Dessa forma, o efeito do tratamento fungicida na qualidade fisiológica das sementes depende do nível de dano e do tempo de armazenamento.

TABELA 13 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho, dos híbridos Ag-122 e C-901, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND), tratadas (T) e não tratadas (ND) com fungicida, no início e final de 12 meses, em duas condições de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tempo	Ag-122				C-901			
			Ambiente		Câmara		Ambiente		Câmara	
			NT	T	NT	T	NT	T	NT	T
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	Zero	70	0	70	0	40	0	40	0
		12 meses	40	0	2	0	24	0	6	0
	D	Zero	13	0	13	0	16	0	16	0
		12 meses	66	0	8	0	27	0	4	0
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	Zero	66	0	66	0	46	0	46	0
		12 meses	49	0	31	0	7	0	1	0
	D	Zero	81	5	77	5	43	1	43	1
		12 meses	77	0	71	0	43	0	23	0
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	Zero	4	0	4	0	27	0	27	0
		12 meses	36	0	3	0	17	0	18	0
	D	Zero	0	0	0	0	0	0	0	0
		12 meses	53	0	1	0	11	0	2	0

Resultados sem análise estatística.

Verificou-se, pelos resultados contidos na Tabela 14, que nas sementes do híbrido Ag-122, com menor nível de dano, no início do armazenamento, os testes de tetrazólio-vigor, tetrazólio-nota média, IVE e emergência detectaram que aquelas tratadas com fungicida apresentaram-se significativamente com qualidade fisiológica superior em relação às não tratadas. No entanto, pelo teste de condutividade elétrica, sementes tratadas é que se apresentaram com qualidade fisiológica superior.

TABELA 14 Valores médios dos testes de tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), tetrazólio-nota média (Tz-nm), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E) e do teste de germinação, de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, respectivamente, com dois níveis de dano mecânico, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida, no início e final de 12 meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro Tempo		Ag-122			
		Dano 1		Dano 2	
		NT	T	NT	T
Tz-va (%)	Zero	98 Aa	99 Aa	92 Aa	90 Aa
	12 meses	92 Ab	88 Bb	82 Ab	83 Ab
Tz-vg (%)	Zero	84 Ba	91 Aa	70 Aa	73 Aa
	12 meses	54 Ab	47 Bb	35 Ab	33 Ab
Tz-nm	Zero	2,2 Ab	1,9 Bb	2,8 Ab	2,8 Ab
	12 meses	3,2 Ba	3,4 Aa	3,9 Aa	4,0 Aa
CE $\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$	Zero	11,83 Bb	14,32 Ab	18,89 Aa	19,25 Ab
	12 meses	18,31 Aa	19,43 Aa	25,78 Ba	28,33 Aa
IVE	Zero	11,96 Ba	12,26 Aa	11,89 Aa	11,97 Aa
	12 meses	10,50 Bb	11,27 Ab	9,31 Bb	10,51 Ab
E (%)	Zero	96 Ba	99 Aa	96 Aa	96 Aa
	12 meses	85 Bb	92 Ab	76 Bb	87 Ab

Parâmetro Tempo		C-901			
		Dano 1		Dano 2	
		NT	T	NT	T
G (%)	Zero	100 Aa	99 Aa	99 Aa	99 Aa
	12 meses	89 Ab	88 Ab	89 Ab	84 Bb

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Após 12 meses de armazenamento, à exceção dos testes de IVE e emergência, os demais detectaram qualidade fisiológica superior nas sementes não submetidas ao tratamento fungicida. A causa provável desses resultados conflitantes é um efeito fitotóxico do fungicida, causando prejuízo à qualidade das sementes ao mesmo tempo em que exerceu controle sobre os fungos, causando um efeito benéfico. O teste de condutividade elétrica evidenciou esse fato, em função das características inerentes ao próprio teste, no qual, a medida da condutividade elétrica da água de embebição fornece, indiretamente a concentração de solutos lixiviados das sementes devido a danos nas membranas, assim, quanto maior a condutividade, menor a integridade das membranas das sementes. Além dos danos mecânicos que, sem dúvida causaram perda de integridade, um possível efeito fitotóxico também pode ter prejudicado a integridade das membranas. Esses dados reforçam os relatos de Copeland (1972); Moore (1972); Silva (1983); Rocha *et al.* (1984); Popinigis (1985); Carvalho & Nakagawa (1988); Jahufer & Borovoi (1992) que afirmaram que sementes danificadas mecanicamente são mais sensíveis a danos químicos no tratamento com defensivos.

Nas sementes com maior nível de dano mecânico, no início do armazenamento, nenhum teste detectou diferença entre sementes tratadas e não tratadas, com relação à qualidade das sementes do híbrido Ag-122. Após o armazenamento, os testes de IVE e emergência, a exemplo do ocorrido anteriormente ao armazenamento, detectaram superioridade das sementes tratadas, mas condutividade elétrica, ao contrário, detectou inferioridade destas. Isso provavelmente ocorreu devido a um provável efeito fitotóxico dos fungicidas aliado ao maior nível de danos, que torna as sementes mais sensíveis à fitotoxicidade dos fungicidas (Machado, 1999), detectado pelo teste de condutividade elétrica, ao mesmo tempo em que houve efeito benéfico à qualidade

fisiológica, proporcionada pelo controle efetivo de fungos pelos fungicidas, como relatado por Pinto (1997 e 1998b) para a mistura thiabendazole + thiram.

Para o híbrido C-901, o teste de germinação só detectou diferenças significativas para sementes com nível 2 de danos, após 12 meses de armazenamento. Observou-se um possível efeito fitotóxico dos fungicidas, nas sementes com nível 2 de danos, ao longo do armazenamento. Esses resultados reforçam os relatos de Copeland (1972); Moore (1972); Silva (1983); Rocha *et al.* (1984); Popinigis (1985); Carvalho & Nakagawa (1988); Jahufer & Borovoi (1992) e Machado (1999), sobre a maior sensibilidade de sementes danificadas a danos químicos. Verificou-se ainda que no híbrido C-901, as sementes com dano 1, independente de terem sido ou não submetidas ao tratamento fungicida, mesmo após 12 meses de armazenamento, apresentaram percentual de germinação acima de 85%, que é o mínimo estabelecido pela comissão estadual de sementes e mudas para fins de comercialização.

Pelos resultados contidos na Tabela 15, observou-se, que para ambos os híbridos e níveis de danificação, a incidência de *Fusarium* sp. foi semelhante. Para as incidências dos demais fungos, observou-se tendência de aumento no nível 2 de danos, no híbrido Ag-122; mas verificou-se semelhança entre os dois níveis de danos, no híbrido C-901. De modo geral, as incidências de fungos no híbrido Ag-122 foram maiores do que no C-901. Isto pode ser em razão de uma maior resistência do híbrido C-901 ao ataque de fungos, pois as cultivares podem reagir de forma diferente à contaminação fúngica nas sementes por várias razões, como o nível de fenólicos, a espessura do tegumento e o revestimento ceroso que pode variar entre as cultivares, afetando o processo de infecção (Halloin, 1983; Agarwal & Sinclair, 1987; Berjak, 1987; Hoernisch & Davis, 1994; Jones & Clifford, 1983, citados por Mycock & Berjak, 1995).

TABELA 15 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND), com dois níveis de dano mecânico, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida, no início e final de 12 meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tempo	Ag-122				C-901			
			Dano 1		Dano 2		Dano 1		Dano 2	
			NT	T	NT	T	NT	T	NT	T
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	Zero	51	0	88	0	40	0	41	0
		12 meses	19	0	23	0	14	0	16	0
	D	Zero	33	0	15	0	18	0	13	0
		12 meses	11	0	42	0	17	0	14	0
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	Zero	63	0	69	0	44	0	48	0
		12 meses	41	0	39	1	4	0	4	0
	D	Zero	79	1	76	9	40	1	45	1
		12 meses	75	0	76	0	34	0	32	0
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	Zero	6	0	2	0	44	0	9	0
		12 meses	18	0	22	0	11	0	24	0
	D	Zero	0	0	0	0	0	0	0	0
		12 meses	22	0	32	0	6	0	7	0

Resultados sem análise estatística.

Todos os testes determinantes da qualidade fisiológica detectaram que a interação período e condição de armazenamento foi altamente significativa para ambos os híbridos (Tabela 3A e 4A).

Pelos resultados apresentados na Tabela 16, relativos ao desdobramento da interação período x condição de armazenamento, observa-se que o teste de T-50, detectou que sementes armazenadas sob condições controladas de temperatura e umidade relativa apresentaram, ao final de 12 meses, qualidade

fisiológica superior àquelas armazenadas sob condições ambiente. Esses resultados estão de acordo os de Mora & Echandi (1976) e Freitas (1992). Observa-se, ainda, que apesar de as perdas na qualidade terem sido significativas ao longo de 12 meses de armazenamento, em ambas as condições, essas foram muito maiores quando as sementes foram armazenadas sob condições ambiente.

Além da interferência prejudicial da temperatura e umidade relativa durante o período de armazenamento, como já mencionado, por Harrington (1972); Fontes (1980); Côme (1983); Bewley & Black (1994), e dos danos mecânicos, como também citado por Fagundes *et al.* (1972); Moore (1972); Delouche (1976); Rocha *et al.* (1984); Bewley & Black (1985); Popinigis (1985); Carvalho (1986); Carvalho & Nakagawa (1988); Andrade & Borba (1993); Peterson *et al.* (1995), observa-se, pelos dados contidos na Tabela 17, a provável influência dos microrganismos no processo deteriorativo. À exceção de *Fusarium* sp., que sob condições ambiente apresentou um nível de incidência em torno de 6% superior nas sementes do híbrido Ag-122, após 12 meses de armazenamento, em relação às sementes armazenadas sob condições controladas, *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. apresentaram diferenças percentuais em termos de incidência, em torno de 29 e 26%, superior nas sementes armazenadas sob condição ambiente. Esses resultados reforçam os relatos de Wetzell (1987), segundo os quais, esses organismos são adaptados a ambientes com umidade relativa do ar entre 60 e 90%, e se desenvolvem numa vasta faixa de temperatura, sendo que o ideal, para sementes amiláceas, está entre 25 a 30°C.

TABELA 16 Valores médios do teste de T-50 de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, com dois níveis de dano mecânico, em dois tempos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro	Tempo	Ag-122		C-901	
		Ambiente	Câmara	Ambiente	Câmara
T-50 (dias)	Zero	2,06 Ab	2,06 Ab	2,02 Ab	2,02 Ab
	12 meses	3,59 Aa	2,65 Ba	3,49 Aa	2,64 Ba

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

TABELA 17 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND), dos híbridos Ag-122 e C-901, em duas condições e dois tempos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tempo	Ag-122		C-901	
			Ambiente	Câmara	Ambiente	Câmara
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	Zero	35	35	20	20
		12 meses	20	1	12	3
	D	Zero	6	6	8	8
		12 meses	33	4	14	2
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	Zero	33	33	23	23
		12 meses	25	16	3	1
	D	Zero	41	41	22	22
		12 meses	41	35	21	11
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	Zero	2	2	13	13
		12 meses	18	2	8	9
	D	Zero	0	0	0	0
		12 meses	27	1	6	1

Resultados sem análise estatística.

Os testes de primeira contagem, germinação, condutividade elétrica, IVE e emergência detectaram que a interação entre dano mecânico e período de armazenamento influenciou significativamente a qualidade fisiológica das sementes do híbrido Ag-122 (Tabela 3A) e os de tetrazólio-viabilidade, condutividade elétrica, IVE e emergência, as sementes do híbrido C-901 (Tabela 4A).

Os testes de tetrazólio-vigor, tetrazólio-nota média, IVE, emergência e teste de frio, detectaram significância ao nível de 1% e o de primeira contagem, a 5%, para a interação período de armazenamento e tratamento fungicida na qualidade das sementes, do híbrido Ag-122 (Tabela 4A), ao passo que, para o híbrido C-901, a significância entre esses fatores foi detectada pelos testes de tetrazólio-nota média e de frio, ao nível de 1%, e primeira contagem, germinação, tetrazólio-viabilidade, condutividade elétrica e IVE, ao nível de 5% (Tabela 4A).

Notou-se pelos resultados contidos na Tabela 18, que o efeito dos fungicidas sobre a qualidade fisiológica das sementes do híbrido C-901 variou com o período de armazenamento. O teste de tetrazólio-nota média detectou superioridade na de sementes tratada apenas anteriormente ao armazenamento e o teste de primeira contagem detectou diferença significativamente superior nas sementes não submetidas ao tratamento fungicida, após 12 meses de armazenamento, enquanto o teste de condutividade elétrica detectou qualidade superior de sementes não tratadas tanto antes, quanto após o armazenamento. Isso provavelmente se deveu à fitotoxicidade exercida pela mistura fungicida thiabendazole + thiram, detectada por esses testes. Apesar disso, essa mistura de fungicidas mostrou-se eficiente no controle de fungos, visto que a incidência destes, encontrada nas sementes submetidas ao tratamento, após 12 meses, foi nula (Tabela 19). Esses resultados confirmam os de Goulart &

Fialho (1999) e Wilson *et al.* (1993), que relataram a eficiência da mistura thiabendazole + thiram no controle de fungos em sementes de milho.

O fato de o teste de condutividade elétrica ter detectado a provável fitotoxicidade dos fungicidas já no início do armazenamento deveu-se ao princípio desse teste, que mede permeabilidade de membranas, que provavelmente possibilitou essa detecção em estágios iniciais, pois segundo Delouche & Baskin (1973), Villiers (1973), Lin (1988), Basavarajapa *et al.* (1991), Tyagi (1992), Khan *et al.* (1996), o processo de deterioração tem início com a desorganização de membranas e perda de sua integridade.

TABELA 18 Valores médios dos testes de primeira contagem (PC), tetrazólio-nota média (Tz-nm), condutividade elétrica (CE), do híbrido C-901, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida, em dois tempos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Parâmetro	Tratamento Fungicida	C-901	
		Zero	12 meses
PC (%)	NT	99 Aa	84 Ba
	T	99 Aa	81 Bb
Tz-nm	NT	2,0 Ba	3,4 Ab
	T	1,9 Bb	3,6 Aa
CE $\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$	NT	19,27 Bb	24,94 Ab
	T	20,84 Ba	27,67 Aa

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Como se observou pelos resultados apresentados na Tabela 19, a mistura fungicida foi eficiente no controle dos fungos tanto antes como após 12 meses de armazenamento.

TABELA 19 Valores médios de incidência de fungos nas sementes de milho, desinfestadas (D) e não desinfestadas (ND), dos híbridos Ag-122 e C-901, tratadas (T) e não tratadas (NT) com fungicida, em dois tempos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fungos	Desinfestação	Tratamento Fungicida	Ag-122		C-901	
			Zero	12 meses	Zero	12 meses
<i>Penicillium</i> sp. (%)	ND	NT	70	21	40	15
		T	0	0	0	0
	D	NT	13	37	16	16
		T	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp. (%)	ND	NT	66	40	46	4
		T	0	0	0	0
	D	NT	77	76	43	33
		T	5	0	1	0
<i>Aspergillus</i> spp. (%)	ND	NT	4	20	27	18
		T	0	0	0	0
	D	NT	0	27	0	6
		T	0	0	0	0

Resultados sem análise estatística.

5. CONCLUSÕES

Sementes de milho, armazenadas por 12 meses sob condições controladas de temperatura e umidade, apresentam qualidade fisiológica superior àquelas armazenadas sob condições ambiente.

Sementes com menor nível de dano mecânico apresentam qualidade fisiológica superior em relação àquelas com maior nível de dano, antes e após armazenamento de 12 meses.

O tratamento fungicida é eficiente em controlar fungos em sementes de milho, mas pode causar fitotoxicidade, principalmente em sementes danificadas mecanicamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.; MIROCHA, C.J. Survival of *Fusarium graminearum* on corn stored at low temperature. *Plant disease*, St Paul, v.70, n.1, p.78, 1986.
- ANDERSON, J.D.; BAKER, E. Deterioration of seeds during aging. Symposium: Deterioration mechanism in seeds. *Phytopathology*, St Paul, v.73, n.2, p.321-325. 1983.
- ANDRADE, R.V.; BORBA, C.S. Fatores que afetam a qualidade das sementes. In: EMBRAPA, Centro Nacional de Milho e Sorgo. **Tecnologia para produção de sementes de milho**. Sete Lagoas, 1993. p.7-10 (EMBRAPA, Circular Técnica, 19).
- ANDREWS, C. Mechanical injury on seeds. In: Short course for seedmen, Mississippi State, 1965. *Proceedings...* Mississippi State University, 1965. p.125-130.
- ARAÚJO, R.F. **Efeito da colheita mecanizada nas perdas quantitativas e qualitativas de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. , 1995. 103p. Tese (Doutorado em Fitotecnia).- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BALMER, E. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1978. p.480-504.
- BANKOLE, S. K. Changes in moisture content fungal infection and kernel germinability of maize in storage. *International journal of tropical plant diseases*, New Dehli, v.12, n.2, p.213-218, 1994.
- BASAVARAJAPPA, B.S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated ageing of maize seeds. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.19, n.2, p.279-286, 1991.
- BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by microorganisms (With particular reference to the fungi) In: NASSER, L. C.; WETZEL, M. M.; FERNANDES, J.M. **Seed pathology: international advance course**, Brasília: Informativo ABRATES, 1987. p. 38-50.

BERRY, E.C.; KNABE, R.P.; KARLEN, D.L. Seed quality: International between seed treatments and soil applied insecticides. In: ANUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 45, 1990. Washington. Conference... Washington: American Seed Trade Association. 1990.

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

BRANDÃO-JÚNIOR, D.S.; DINIZ, A.R.; CARVALHO, M.L.M.; VIEIRA, M.C.G.C.; OLIVEIRA, M.S.; OLIVEIRA, J.A. 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. Regras para Análise de Sementes. Brasília, DF, 1992. 365p.

BUNCH, H.D. Problems in seed processing. *Seed World, Northwest Highway* v.90, n.9, p.8-11, 1962.

CARVALHO, M.L.M.; SILVA, W.R. Refrigeração e qualidade de sementes de milho armazenadas em pilhas com diferentes embalagens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, v.29, n.9, p.1319-1332, 1994.

CARVALHO, N.M. Vigor de sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J. (coord.). *Semana de atualização em produção de sementes*. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.207-223.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; MEDEIROS, C.A.; MOURA, B. Efeito do tratamento de semente de milho com fungicidas, na proteção de fungos de solo, no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira, Brasília*, v.20, n.4, p.633-638, 1995.

CHOUDHURY, M.M. Flora fúngica de sementes de milho procedente de Ouricuri, Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira, Brasília*, v.9, n.2, p.380, 1984.

CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. Grain storage: the role of fungi in quality loss. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1969.

CHRISTENSEN, C.M. Loss of viability in storage: microflora. *Seed science technology, Zurich*, v.1, p.547-562, 1973.

CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. Microflora. In: CHRISTENSEN, C.M. (ed). **Storage of cereal grains and their products**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1974. p.158-192.

CÍCERO, C.M.; SMIDERLE, O.J.; SILVA, W.R. Influência da associação entre dano mecânico e patógenos no desempenho de sementes de milho (*Zea mays* L). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10, 1997, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu, 1997. p.142.

COBB, R.D.; JONES, L.G. Development of a sensitive laboratory growth test measure seed deterioration. **Proceeding of the Association of Official Seed Analysts**, Virginia, v.56, p.52-60, 1965.

CÔME, D. Post harvest physiology of seeds as related to quality and germinability. In: LIERMANN, M. **Post Harvest, physiology and crop preservation**. New York: Plenum Press, 1983. p.142-165.

COPELAND, L.O. How seed damage affects germination. **Crops and Soils Magazine**, Madison, v.24, n.9, p.9-12, 1972.

DELOUCHE, J.C. Observaciones sobre deterioracion de semillas. **Semillas**, Bogotá, v.1, n.1, p.8-11, 1976.

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

DENUCCI, S.; LEME, L.C.; PATRÍCIO, F.R.A.; BORIN, R.B.R.G.; ORTOLANI, D.B. Tratamento de sementes de linhagens de milho com fungicidas. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 18, 1980. Vitória. **Resumos**. Vitória: EMCAPA, 1990. p.77.

DINGRA, O.D. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.7, n.1, p.135-145, 1985.

DJAKAMIHARDJA, G.; SCOTT, G.E.; FUTRELL, M.C. Seedling reaction of inbreeds and singles crosses of maize to *Fusarium moniliforme*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.5, n.54, p.301-310, 1970.

DUNGAN, G. H.; KOEHLER, B. Age of seed corn in relation to seed infection and yielding capacity. *Journal American Society of Agronomy*, Washington, v. 36, n. 5, p. 436-443, 1994.

FAGUNDES, S.R.F.; CAMARGO, C.P.; VECHI, C. Considerações sobre dano mecânico e seu efeito na qualidade da semente de milho. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO, 9, 1972, Recife. *Anais... Recife*, s.n. 1972. p.308-315.

FIALHO, W.F.B. **Desempenho de sementes de milho portadoras de *Fusarium moniliforme* Sheldon.** 1997. 69p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Dourados.

FINCH, E.O.; COELHO, A.M.; BRANDINI, A. Colheita de milho. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.6, n.72, p.61-66, 1980.

FISCUS, D.E.; FOSTER, G.H.; KAUFEMANN, H.H. Physical damage of grain caused by various handling techniques. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, St. Joseph, v.14, p.480-485, 1971.

FONTES, R.A. Secagem e armazenamento. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.6, n.72, p.66-69, 1980.

FRATIN, P. **Comparação entre métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.).** , 1987. 190p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FREITAS, G.B. **Influência das condições de armazenamento na conservação de três lotes de sementes de milho (*Zea mays* L.).** 1992. 67p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GILL, N.S.; DELOUCHE, J.C. Deterioration of seed corn during storage. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, Virginia, v.63, p.63-50, 1973.

GONÇALVES, C.A.R. **Efeito de métodos de colheita e debulha de sementes sobre a germinação e produção de milho (*Zea mays* L.).** 1981. 122p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

GOULART, A.C.P. Tratamento de sementes de milho (*Zea mays* L.) com fungicidas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.15, n.2, p.165-169, 1993.

GOULART, A.C.P.; FIALHO, W.F.B. Incidência e controle de *Fusarium moniliforme* Sheldon em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.1, p.216-221, 1999.

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

HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v.3, p.145-245.

HENNING, A.A.; FRANÇ-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; VAL, W.M.C. Controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.3, n.3, p.96, 1993.

JAHUFER, M.Z.Z.; BOROVOI, V.V. The effects of mechanical damage to maize (*Zea mays* L) seed on germination seedling morphology and subsequent grain yield. **Journal of Applied Seed Production**, Australia, v.10, n.31, p.67-77, 1992.

JOHNSON, D.Q.; RUSSEL, W.A. Genetic variability and relationships of physical grain-quality traits in the BSSS population of maize. **Crop Science**, Madison, v.22, n.4, p.805-809, 1982.

KELLER, D.L.; CONVERSE, H.H.; HODGES, T.O.; CHUNG, D.S. Corn kernel damage due to high velocity impact. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.15, n.2, p.330-332, 1972.

KHAN, M.M.; HENDRY, G.A.F.; ATHERTON, N.M.; VERTUCCI-WALTERS, C. W. Free radical accumulation and lipid peroxidation in tests of rapidly aged soybean seed: a light - promoted process. **Seed Science Research**, Wallingford, v.6, n.3, p.101-107, 1996.

LEFORD, D.R.; RUSSEL, W.A. Evaluation of physical grain quality in the BS17 and BS1 (HA) C1 synthetics of maize. **Crop Science**, Madison, v.25, n.3, p.471-476, 1985.

- LIN, S.S. Efeito do período de armazenamento na lixiviação dos solutos celulares e qualidade fisiológica da semente de milho (*Zea mays* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.10, n.3, p.59-67, 1988.
- LOZANO, J.L.; MAYER, A.M. Water relations and oxygen uptake by two lines of corn differing in storage performance. *Israel Journal of Botany*, Jerusalem, v.39, p.347-354, 1990.
- MACHADO, J.C. Tratamento de sementes no controle de patógenos. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 117p.
- MAEDA, J.A.; LAGO, A.A.; MIRANDA, L.T.; TELLA, R. Armazenamento de sementes de cultivares de milho e sorgo com resistências ambientais diferentes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.22, n.1, p.1-7, 1987.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MANTOVANI, B.H.M.; FONTES, R.A. Secagem e armazenamento de milho. Campinas: Fundação Cargill, 1989. 35p. (Boletim Técnico, 2).
- MARSH, R.W. Systemic fungicides. London: Longman, 1982. 321p.
- McGEE, D.C. Introduction. In: Symposium on Deterioration mechanisms in seeds. Introduction - *Phytopatology*, St. Paul, v.73, n.2, p.314-317, 1983.
- MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: Mentem, J.O.M. *Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico*. Piracicaba:ESALQ/FEALQ, 1991. 320p.
- MOORE, R.P. Effects of mechanical injuries on viability. In: ROBERTS, E. H. (ed.). *Viability of seeds*. London: Chapman and Hall, 1972. p.94-113.
- MOORE, R.P. *Manual de ensayos al tetrazólio*. Asociacion Internaciona de Ensayos de Semillas, 1985. 91p.
- MORA, M.A.; ECHANDI, R.Z. Evaluacion del efecto de condicione de almacenamiento sobre la calidad de semillas de arroz (*Oriza sativa* L.) y de mays (*Zea mays* L.). Turrialba, San Jose, v.26, n.4, p.413-416, 1976.
- MORENO, E.M.; RAMIREZ, J.G. Comparison of Mexican maize races stored under adverse humidity and temperature. In: GLOBAL MAIZE

GERMOPLASM WORKSHOP, 1988, Mexico. Recent advances in the conservation and utilization of genetic resources. **Proceedings...** Mexico: CIMMITY, 1988. p.94-98.

MORENO-MARTINEZ, E.; VAZQUEZ-BADILLO, M.E.; NAVARRETE, R.; RAMIREZ-GONZALEZ, J. Effect of fungi and chemical treatment on viability of maize and barley seeds with different storage characteristics. **Seed science and technology**, Zurich, v.22, n.3, p.541-549, 1994.

MYCOCK, D.J.; BERJAK, P. The implications of seed-associated microflora during storage. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Decker, 1995. p.747-766.

NAIK, D.M.; NAWA, I.N.; RAEMAEEKERS, R.H. Absence of an effect from internal seed-borne *Fusarium moniliforme* on emergence, plant growth and yield of maize. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.10, n.2, p.347-356, 1982.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mac Millan Press, 1977. 1191p.

NG, H.F.; MOREY, R.V.; WILCKE, W.F.; MERONUCK, R.A.; LANG, J.P. Relationship between equilibrium relative humidity and deterioration of shelled corn. **American society of Agricultural**. St. Paul, v.38, n.4, p.1139-1145, 1995 (Paper, 93-6512).

OLIVEIRA, J.A. **Efeito de métodos de colheita e do tipo de armazenamento na qualidade de sementes de milho**. 1997. 134p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PATRÍCIO, F.R.A.; BORIN, R.B.R.G.; DENICCI, S.; LEME, L.C.; ORTOLANI, D.B. Tratamento de sementes de milho com fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.138, 1990.

PEREIRA, J.A.M. Água no grão. In: CENTREINAR. **curso de armazenamento de sementes**. Viçosa:, 1992.p. irreg. (Treinamento na Área de Pós-colheita - Cursos para Técnicos de Cooperativas).

PEREIRA, O.A.P. Tratamento de sementes de milho. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 2, 1986, Campinas. **Palestras...** Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.145-159.

- PEREIRA, O.A.P. Tratamento de sementes de milho no Brasil. In: MENTEN, J.O.M. (ed.) **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. p.271-280.
- PETERSON, J.M.; PERDOMO, J.A.; BURRIS, J.S. Influence of kernel position, mechanical damage and controlled deterioration on estimates of hybrid maize seed quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.23, p.647-657, 1995.
- PIERCE, R.O.; HANNA, M.A. Corn kernel damage during on-farm handling. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.28, n.1, p.239-241, 1985.
- PINTO, N.F.J.A. Eficiência de fungicidas no tratamento de sementes de milho visando o controle de *Fusarium moniliforme* e *Pythium* sp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.8, p.797-801, 1997.
- PINTO, N.F.J.A. **Patologia de sementes de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1998a. 44p. (EMBRAPA/CNPMS. Circular Técnica, 29).
- PINTO, N.F.J.A. Seleção de fungicidas para o tratamento de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.22-25, 1998b.
- PINTO, N.F.J.A. Tratamento fungicida de sementes de milho. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4, 1996. Gramado. Tratamento químico de semente. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1996. p.52-57.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.
- PRASAD, T.; PATHAK, S.S. Impact of various storage systems on biodetermination of cereals. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.40, n.1, p.34-46, 1987.
- PRIESTLEY, D.A. **Seed ageing**. Ithaca, New York: Comstock publ. Assoc, 1986.
- PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1989. 603p.
- QASEM, S.A.; CHRISTENSEN, C.M. Influence of moisture content, temperature, and time on the deterioration of stored corn by fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v.48, p.544-549, 1958.

QASEM, S.A.; CHRISTENSEN, C.M. Influence of various factors on the deterioration of stored corn by fungi. *Phytopathology*, St. Paul, v.50, n.10, p.703-709, 1960.

RANDHAWA, H.S.; DEY, S.K.; KAUR, J.; SHARMA, H.L.; HARI, S.; KHEHRA, A.S.; SINGH, H. Studies on seed germination, seedling vigour and seed microflora of graded maize (*Zea mays* L.) *Annals of Biology*, Ludhiana, v.6, n.1, p.49-52, 1990.

RICHARDSON, M.J. *An annotated list of seed-borne disease*. 3ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 1979. 320p. (Phytopathological Papers, 23).

ROBERTS, E.H. Loss of viability: ultrastructural and physiological aspects. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.1, n.3, p.259-545, 1973.

ROCHA, F.E.; CORDEIRO, C.M.T.; GIORDANO, L.B.; CUNHA, J.M. Danos mecânicos na colheita de sementes de ervilha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.19, n.9, p.1117-1121, 1984.

SHURTLEFF, M.C. *Compendium of corn diseases*. Urbana: APS Press, 1986. 105p.

SILVA, C.M. *Efeitos da velocidade do cilindro, abertura do côncavo e do teor de umidade sobre a qualidade da semente de soja*. 1983. 97p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SMITH, D.R.; WHITE, D.G. Disease of corn. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. *Corn and corn improvement*. 3ed., Madison: Wisconsin, 1988. p.687-766.

SMITH, M.T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation - tolerant and desiccation - sensitive seeds. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.). *Seed development and germination*. Marcel Decker: New York. 1995. p.701-746.

SRIVASTAVA, A.K.; HERUM, F.L. Impact parameters related to physical damage to corn kernels. *Transactions of the ASAE*, St. Joseph, v.19, n.6, p.1147-1151, 1976.

THOMAS, M.D.; BUDDENHAGEM, P. Incidence and persistence of *Fusarium moniliforme* in symptomless maize kernels and seedlings in Nigeria. *Mycology*, New York, v.72, n.5, p.882-887, 1980.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes**. Tecnologia de produção. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224p.

TOSELLO, J. Observações sobre a conservação de sementes. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2., Pelotas, 1968. *Anais...* Pelotas, 1970. p.323-332.

TYAGI, C.S. Evaluating viability and vigour in soybean seed with automatic seed analyzer. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.20, n.3, p.687-694, 1992.

VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.L.M.; MACHADO, J.C. **Controle de qualidade de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 113p.

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

VILLIERS, T.A. Aging and the longevity of seeds in field conditions. In: HEYDECKER, W. **Seed Ecology**. Nothinghan: ISA, Pennsylvania State University Press, 1973. p.265-88.

VON PINHO, E.V.R. **Influência do Tamanho da semente e do Tratamento fungicida e inseticida na preservação da Qualidade de sementes de milho durante o Armazenamento e seu Comportamento no campo**. 1991. 112p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VON PINHO, E.V.R.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A.D.; MENTEM, J.O.M.; MORAES, M.H.D. Efeito do tratamento 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.

WETTLAUFER, S.H.; LEOPOLD, A. C. Relevance of Amadori and Mailard products to seed deterioration. *Plant Physiology*, Washington, v.97, p.165-169. 1991.

WETZEL, M.M.V.S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.260-274.

WILSON JR., McDONALD JR., M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.14, n.2, p.269-300, 1986.

WILSON-JUNIOR, D.O.; MOHAN, S.K.; KNOTT, E.A. Evaluation of fungicide seed treatments for Shrunken-2 ("Supersweet") sweet corn. **Plant Disease**, St. Paul, v.77, n.4, p.348-351, 1993.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FURIHATA, Y.; NAKAMAR, Y.; ESASHI, Y.A. mechanism of seed deterioration in relation to the volatile compounds evolved by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, n.1, p.49-56, 1994.

CAPÍTULO 3

RELAÇÃO ENTRE O TESTE DE DETERIORAÇÃO CONTROLADA E A PERFORMANCE DE SEMENTES DE MILHO ARMAZENADAS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES

RESUMO

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes. Relação entre o teste de deterioração controlada e a performance de sementes de milho sob diferentes condições de armazenamento. 2001. 173p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

A importância de um teste de vigor está na disponibilidade de métodos com os quais se possa obter resultados uniformes e comparáveis entre diferentes análises. Com o objetivo de determinar as condições do teste de deterioração controlada (umidade das sementes e período de envelhecimento) visando a diferenciar e ranquear lotes e prever a emergência/ germinação das sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, após 12 meses de armazenamento sob condições controlada e de ambiente, foram conduzidos ensaios no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG. Os tratamentos constaram da separação das sementes em dois lotes com diferentes níveis de danos, que foram novamente divididos em dois e apenas um recebeu tratamento fungicida. Parte das sementes foi separada para avaliações e outra foi dividida, embalada, e metade foi levada ao armazenamento convencional e a outra ao armazenamento com controle de temperatura e umidade relativa (10°C e 50%UR). Antes do armazenamento o teste de deterioração controlada foi conduzido; para isso o teor de água das sementes para 13 e 20% de umidade e o período de envelhecimento foi de 24, 48 e 72 horas, a 41°C. Os resultados permitiram concluir que a umidade das sementes e período de envelhecimento para diferenciar, classificar e prever a emergência após o armazenamento variam em função do híbrido e das condições de armazenamento.

*Comitê Orientador: Prof^ª Dr^ª Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Orientadora), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^ª Dr^ª Maria Laene Moreira de Carvalho, Pesq. Dr. João Almir Oliveira Prof^ª Dr^ª Édila Vilela de Resende Von Pinho.

ABSTRACT

MANTOVANELI, Mary Cleide Hernandes. Relationship between controlled deterioration test and field performance of maize seeds under distinct storage conditions. 2001. 173p. Thesis (Doctorate in Crop Science)*. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The objective of this work was to determine the water content of seeds and aging period of the controlled deterioration test to differentiate and to rank seed lots looking at the prediction of the emergence/germination of the maize seeds, after 12 months storage under controlled and conventional conditions. The seeds used in this work belonged to the hybrid lines, Ag-122 and C-901 provided by the Companies Agroceres and Cargill were used. Seeds were separated in two parts with different levels of mechanical damages and then each divided in two other parts, one treated with fungicide. Part of the seeds of each treatment was used for evaluation and the other was splitted and wrapped in multifold paper bags half was taken to conventional storage and the other fraction stored at temperature and atmosphere humidity of 10°C and 50% RH. Before storage, the controlled deterioration tests were conducted; for that seed water content was adjusted to 13 and 20 percent and the seed aging was done for 24, 48 or 72 hours at 41°C. After 12 months storage seeds were evaluated by the following tests: germination, cold test, tetrazolium viability, tetrazolium vigor, and emergence. According to the results the seed water contents and aging periods were variable in accordance with the hybrids and storage conditions.

*Guidance Committee: Prof^a Dr^a Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira (Major Professor), Prof. Dr. José da Cruz Machado, Prof^a Dr^a Maria Laene Moreira de Carvalho, Pesq. Dr. João Almir Oliveira, Prof^a Dr^a Édila Vilela de Resende Von Pinho.

1 INTRODUÇÃO

A análise de sementes é realizada com o objetivo de avaliar a sua qualidade. Os testes de vigor têm por principal finalidade a identificação de diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes com poder germinativo semelhante. Dessa forma, esses testes são utilizados em controle de qualidade interno de empresas produtoras de sementes, visando a auxiliar na decisão quanto ao destino e/ou ação a serem tomadas com relação aos lotes.

A queda no vigor das sementes pode ser expressa pelo atraso na emergência da radícula, menor crescimento da plântula, maior número de plântulas anormais e redução de tolerância a condições de estresse. Assim, os testes de vigor devem ser escolhidos de modo que atendam a objetivos específicos, fornecendo informações complementares ao teste padrão de germinação, visto que esse, por ser realizado sob condições ideais, mostra-se pouco eficiente em prever o comportamento das sementes.

O teste de deterioração controlada é um teste de vigor bastante promissor, que tem o mesmo princípio do teste de envelhecimento acelerado, ou seja, a exposição das sementes a condições de elevada temperatura e umidade relativa, mas no teste de deterioração controlada o grau de umidade das sementes e a temperatura são controlados de forma mais precisa.

Peterson *et al.* (1995) utilizaram, com sucesso, o processo de deterioração controlada com o objetivo de determinar o potencial de armazenamento de lotes de sementes de milho localizadas em diferentes posições da espiga e submetidas ao dano mecânico por impacto e abrasão. Segundo Rosseto & Marcos Filho (1995), a deterioração controlada pode também ser utilizada para diferenciar lotes de sementes quanto a qualidade fisiológica.

Com esta pesquisa teve-se como objetivo determinar as condições do teste de deterioração controlada (umidade das sementes e período de envelhecimento) visando a diferenciar e classificar lotes e prever a emergência/ germinação das sementes dos híbridos de milho Ag-122 e C-901, após 12 meses de armazenamento sob condições controlada e de ambiente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Avaliação da qualidade de sementes

Para avaliação da qualidade de sementes, o teste padrão de germinação tem sido o principal e mais aceito critério de viabilidade (Hamptom & Coolbear, 1990). No teste padrão de germinação, as sementes são colocadas para germinar em condições favoráveis e pode-se assim, corretamente predizer o desempenho em condições ótimas de campo (Copeland & McDonald, 1995). Entretanto, condições ótimas raramente ocorrem, se é que ocorrem (ISTA, 1981). A emergência em campo é, normalmente, menor que a predita pelo teste padrão de germinação (McDonald, 1980). Em certas condições, alguns lotes de sementes comportam-se melhor do que outros de viabilidade similar (ISTA, 1981). Diferenças de desempenho entre lotes, os quais o teste de germinação indicou serem de qualidade similar, podem também ocorrer após períodos de armazenamento (Hampton & Coolbear, 1990). O teste de germinação, portanto, não fornece uma completa avaliação da deterioração ou qualidade do lote de sementes (McDonald, 1980).

O reconhecimento de diferenças de desempenho entre lotes de sementes com alta germinação é conhecido como vigor. Diferenças relativamente grandes no vigor de sementes com altas porcentagens de germinação não podem ser discriminadas pelo teste de padrão de germinação (Roberts, 1986). Os testes de vigor são então utilizados para caracterização mais precisa do lote de sementes e devem ser escolhidos de maneira a atender objetivos específicos, complementando as informações fornecidas pelo teste padrão de germinação.

2.2 Teste de deterioração controlada na previsão da longevidade das sementes

O teste de deterioração controlada envolve o princípio básico do teste de envelhecimento acelerado, ou seja, lotes de sementes com alto vigor manterão sua viabilidade quando submetidos, durante curtos períodos de tempo, a condições de alta temperatura e umidade relativa, em uma câmara apropriada, enquanto as de baixo vigor terão sua viabilidade reduzida sob essas mesmas condições (Marcos Filho *et al.*, 1987). Esse teste foi desenvolvido inicialmente para avaliação do vigor de sementes pequenas (Matthews, 1980; Powell & Matthews, 1981; Powell *et al.*, 1984).

Helmer, Delouche & Lienhard (1962), citados por Marcos Filho (1992), estudaram a resposta de sementes de trevo à germinação, após alguns dias de exposição a alta temperatura e umidade. Os resultados obtidos apresentaram alta relação com a emergência das plântulas no campo, sugerindo que o envelhecimento acelerado pode ser muito útil para avaliar o potencial de armazenamento das sementes. Nesse contexto, o teste de envelhecimento acelerado foi desenvolvido por Delouche (1965), procurando prever o potencial relativo de armazenamento de lotes de trevo e festuca.

Basavarajappa *et al.* (1991) verificaram que o envelhecimento acelerado, em sementes de milho, leva à perda de integridade das membranas. Os radicais livres, produzidos como um resultado da peroxidação de lipídeos no envelhecimento, reagem com os lipídeos das membranas celulares destruindo a estrutura destas e também as reservas das sementes, resultando na redução da qualidade das sementes.

No teste de deterioração controlada, os fatores temperatura e teor de água das sementes são regulados de forma mais precisa do que no teste de envelhecimento acelerado. A umidade das sementes é ajustada para uma umidade inicial específica antes de serem envelhecidas (Powell & Matthews,

1981). Enquanto o teste de envelhecimento acelerado avalia a resposta das sementes às condições de temperatura e umidade relativa elevadas, o de deterioração controlada utiliza sementes com elevado conteúdo de água; assim, nesse teste, o efeito da umidade é direto, mas ambos os testes têm como princípio a aceleração do processo de envelhecimento. Esses testes preenchem os critérios relacionados por Powell & Matthews (1981) para um bom teste de vigor, isto é, fundamentam-se em base teórica consistente, proporcionam resultados reproduzíveis e relacionados à emergência das plântulas em campo sob variadas condições de ambiente (Rossetto & Marcos Filho, 1995).

Powell & Matthews (1981) relataram que um dos aspectos que deve ser levado em conta para o uso do teste de deterioração controlada é a determinação do conteúdo de água ideal para as sementes iniciarem o envelhecimento, que pode variar conforme o lote de sementes. Existe uma relação entre grau de umidade das sementes e a temperatura de instalação do teste, pois as sementes devem ter o conteúdo inicial de água elevado sob uma determinada temperatura. Porém, se essa temperatura for maior, podem-se utilizar sementes com menor conteúdo inicial de água.

Wang *et al.* (1994), trabalhando com sementes de trevo vermelho, relataram que o teste de deterioração controlada, realizado com sementes que apresentavam 18% de umidade, submetidas a 45°C por 24 horas, apresentou a melhor correlação com emergência de plântulas, em diferentes épocas de semeadura.

Rossetto & Marcos Filho (1995), comparando os métodos de envelhecimento acelerado (41°C/48h) e de deterioração controlada (40°C/48h) na avaliação da qualidade fisiológica de soja, observaram que o teste de deterioração controlada foi capaz de identificar diferenças na qualidade fisiológica, sendo esse teste menos drástico que o de envelhecimento acelerado. Ressaltaram porém a importância de se tomar cuidado durante a embebição das

sementes para evitar danos que possam ocorrer e que venham a causar prejuízo no seu desempenho. Os autores verificaram ainda que à medida que se aumentou o conteúdo de água das sementes, houve queda na porcentagem de germinação.

Boersma *et al.* (1996) encontraram correlação do teste de deterioração controlada com 20% de conteúdo de água na semente incubada a 45°C por 24h, com a emergência em campo, mas recomendaram maiores estudos para adequação da metodologia de deterioração controlada em sementes de soja. De maneira semelhante, Wang *et al.* (1996), observaram em sementes de alfafa com conteúdo de água de 20% e envelhecidas a 45°C por 24h, que houve correlação com a emergência de plântulas em solo com umidade de 30% da capacidade de campo.

Powell *et al.* (1997), trabalhando com ervilha, observaram que o teste de deterioração controlada com sementes apresentando 15% de umidade e temperatura de envelhecimento de 50°C por 60 ou 72h foi capaz de diferenciar vigor de sementes com germinação similar e acima de 80%.

Trabalhando com sementes de colza e ervilha, Larsen *et al.* (1998) demonstraram que o teste de deterioração controlada proporcionaram uma melhor discriminação de qualidade de lotes de sementes do que o teste padrão de germinação, além de apresentar correlação com o desempenho das sementes no campo.

Padilha *et al.* (2001) correlacionaram deterioração controlada com a emergência de sementes de milho sob diferentes condições de temperatura e disponibilidade de água por ocasião da semeadura. Foram utilizados os valores de 15, 20 e 25% de conteúdo de água e as sementes incubadas a 40°C por 24 e 48 horas. Segundo os autores, as condições do teste deterioração controlada variaram em função das condições em que a emergência foi efetuada, apresentando-se, no entanto, eficiente para prever a emergência em diferentes situações. Nas condições de 15 e 20% de umidade das sementes por 24 horas foi

possível estimar a emergência de plântulas em areia sob condições ideais. O tratamento de 20% de umidade das sementes e 48 horas de envelhecimento correlacionou-se com o teste de frio.

Já, Hampton *et al.* (1992), trabalhando com feijão mungo e feijão francês, não obtiveram correlação entre deterioração controlada a 20 e 22% de conteúdo de água, a 45°C por 48h e a emergência em campo. Segundo sugeriu Powell (1995), a baixa correlação entre o teste de deterioração controlada e desempenho no campo pode refletir condições de campo próximas às ideais ou uma faixa limitada de vigor entre os lotes testados.

O potencial de armazenamento de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga e submetidas a dano mecânico por impacto e abrasão foi determinado por Peterson *et al.* (1995), por meio do teste de deterioração controlada. A umidade das sementes foi elevada de 11,5 para 13% pela exposição das sementes a uma umidade relativa de 77% a 22°C por 48h e em seguida estas foram armazenadas em sacos de polietileno a 37°C por três semanas. Sementes danificadas mecanicamente, tanto por impacto quanto por abrasão, sofreram reduções acentuadas na germinação após o tratamento de deterioração controlada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras/MG. Foram utilizadas sementes de milho da safra 1997/1998, dos híbridos Ag-122, um híbrido duplo, precoce (864UC), porte médio, de grão semidentado amarelo, peneira 24, produzidas pela Empresa de Sementes Agrocere e C-901, um híbrido simples superprecoce (790UC), porte baixo de grão semidentado amarelo, peneira 20, produzidas pela Cargill.

3.1 Caracterização inicial da qualidade das sementes

3.1.1 Umidade

A determinação do grau de umidade foi efetuada pelo método da estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, com duas repetições, de acordo com as prescrições das Regras Para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.2 Danos mecânicos

A identificação de sementes danificadas foi efetuada em quatro repetições de 100 sementes, que foram imersas em solução do corante *Amaranthus* a 0,1%, durante 2 minutos e, em seguida lavadas em água corrente. A avaliação foi feita quanto à presença e grau de danos, em função do desenvolvimento de áreas coloridas, bem como do local e extensão dessas áreas. Os danos foram classificados em graves, médios e leves, de acordo com Vieira *et al.* (1999). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.3 Exame de sementes infestadas

Efetuada em duas repetições de 100 sementes. As sementes foram imersas em água por 24 horas. Após esse período, foi feito o exame individual de sementes, por meio de corte longitudinal. Observou-se a presença de inseto adulto, pupa, larva, lagarta, ovo ou orifício provocado pelo inseto, de acordo com recomendação das RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.4 Germinação

Os testes foram realizados com quatro repetições de 50 sementes, semeadas no sistema de rolo de papel umidecido com 2,5 vezes o peso do papel em água e mantidas em germinador à temperatura constante de 25°C. As avaliações foram conduzidas de acordo com os critérios estabelecidos pelas RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.5 Emergência em canteiro

Efetuada em canteiro contendo uma mistura de areia e terra na proporção de 1:1, previamente desinfestada com brometo de metila. Duas repetições de 50 sementes foram semeadas manualmente, em linhas de um metro de comprimento à profundidade de três centímetros. Foram efetuadas regas diárias. Anotou-se o número de plântulas emergidas, com mais de dois centímetros, 21 dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem.

A caracterização inicial dos lotes de sementes está apresentada na Tabela 1.

TABELA 1 Caracterização inicial de germinação (G), emergência (E), infestação (I), umidade (U) e danos mecânicos, dos lotes de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, utilizadas no experimento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Híbrido	G (%)	E (%)	I (%)	U (%)	Sementes com dano mecânico (%)			
					Grave	Médio	Leve	Total
Ag - 122	96	92	0,5	11,4	8,0	4,5	5,8	18,3
C - 901	99	99	1,0	10,5	5,5	13,3	9,8	28,5

3.2 Tratamentos

Em ambos os híbridos, as sementes foram separadas, com o auxílio de lupa (aumento 10x), em dois lotes em função do nível de dano mecânico, ou seja, um de sementes sem dano mecânico visível (Dano 1) e outro com uma porcentagem de dano mecânico visível (Dano 2), relacionados na Tabela 2. Em seguida, cada lote recebeu tratamento com inseticida K-obiol (33cc/ton) e Actellic (33cc/ton). Esses lotes foram novamente divididos em duas partes, uma não recebeu tratamento fungicida ao passo que a outra recebeu tratamento com fungicida thiabendazole (240g ia/100kg de sementes) + thiram (105g ia/100kg de sementes). Para cada tratamento foram efetuadas quatro repetições. De cada repetição, uma parte das sementes foi separada para avaliações no tempo zero, antes de iniciar o armazenamento. A outra parte foi dividida, novamente em duas, embaladas em papel multifoliado, em que metade foi levada ao armazenamento convencional, sem controle de temperatura e umidade, porém monitorado por termohigrógrafo (Figura 1A) e a outra metade foi armazenada em câmara fria a 10°C e umidade relativa de 50%. Após 12 meses de armazenamento, as sementes foram transferidas ao laboratório e submetidas às avaliações de qualidade.

TABELA 2 Porcentagens de danos mecânicos nas sementes após classificação visual das sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Nível de dano (%)	Híbridos			
	Ag-122		C-901	
	Dano 1	Dano 2	Dano 1	Dano 2
Grave	2,4	19,9	0,5	5,5
Médio	8,8	22,3	11,6	16,8
Leve	11,9	17,6	15,4	18,1
Total	23,0	59,8	27,5	40,4

Médias de 16 repetições de 100 sementes

O teste de deterioração controlada foi realizado no início do período de armazenamento. Determinou-se, inicialmente a umidade das sementes pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas, com duas repetições (Brasil, 1992). Em seguida, o teor de água das sementes foi ajustado para dois diferentes níveis: 13 e 20% de umidade. Para isso, foram utilizadas embalagens revestidas de alumínio onde foram colocadas 50 sementes e, com o auxílio de uma micropipeta, a quantidade exata de água, necessária para atingir os valores desejados, foi adicionada. O cálculo da quantidade de água necessária foi efetuado de acordo com ISTA (1995). As embalagens foram, então, seladas à quente e mantidas por 24 horas à 10°C , para uniformização da umidade das sementes. Em seguida, as sementes foram envelhecidas em ambiente controlado a 41°C por três períodos distintos: 24, 48 e 72 horas. Depois do envelhecimento, foi efetuado o teste de germinação como descrito no item 3.1.4.

3.3 Avaliações

3.3.1 Germinação

O teste de germinação foi efetuado como descrito no item 3.1.4, com duas repetições de 50 sementes.

3.3.2 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com duas repetições de 50 sementes que foram semeadas em caixas plásticas (60x30x10cm) contendo uma mistura de areia e solo proveniente de área cultivada com milho, na proporção de 2:1. Foi adicionado água até atingir 60% da capacidade de campo do substrato. Essas caixas foram vedadas e permaneceram em câmara fria a 10°C por sete dias e, posteriormente, foram abertas e colocadas em câmara de crescimento a 25°C por mais sete dias, quando foi calculada a porcentagem de plântulas emergidas.

3.3.3 Teste de tetrazólio (viabilidade, vigor)

As sementes foram pré-condicionadas em água por 16 horas a 25°C. Após esse período, foram seccionadas longitudinalmente e imersas em solução de 2,3,5 cloreto de trifetil tetrazólio a 0,075%, permanecendo nessa solução por um período de quatro horas a 25°C, em ambiente escuro. Em seguida, foram lavadas em água corrente e submetidas à avaliação em microscópio estereoscópico, quando foram atribuídas notas de um a oito às sementes individualmente. Em seguida, foram lavadas em água corrente e submetidas à avaliação em microscópio estereoscópico, quando foram atribuídas notas de um a oito às sementes individualmente. Foram atribuídas notas de 1 a 8, segundo critérios recomendados por Moore (1985), nos quais os valores de 1 a 3 foram atribuídos a sementes vigorosas, de 1 a 5 a sementes viáveis e acima de 5 a sementes inviáveis.

3.3.4 Emergência em canteiro

Efetuada como no item 3.1.5.

3.4 Procedimento estatístico

O delineamento estatístico utilizado para o teste de deterioração controlada foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (4x2x3), sendo, quatro tratamentos (Dano 1 não tratadas, Dano 1 tratadas, Dano 2 não tratadas, Dano 2 tratadas) dois conteúdos de água nas sementes (13 e 12%) e 3 períodos de envelhecimento (24, 48 e 72h), com quatro repetições, para cada híbrido. Para os demais testes utilizou-se o fatorial 4x2, sendo 4 tratamentos (Dano 1 não tratadas, Dano 1 tratadas, Dano 2 não tratadas, Dano 2 tratadas) e duas condições de armazenamento (ambiente e controlada).

Os dados foram submetidos à análise de variância. A comparação entre médias foi efetuada pelo teste de Tukey ao nível de 95% e 99% de significância. Foram determinados os coeficientes de correlação entre os resultados das combinações de conteúdo de umidade das sementes e período de envelhecimento do teste de deterioração controlada e os demais testes de qualidade fisiológica efetuados ao final de 12 meses, nas duas condições de armazenamento.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados da análise de variância (Tabela 5A), notaram-se valores de F altamente significativos para tratamentos, umidade das sementes, período de envelhecimento e para as interações tratamentos x período de envelhecimento; tratamento x umidade das sementes; umidade das sementes x período de envelhecimento, para os híbridos Ag-122 e C-901 e tratamento x umidade das sementes e umidade das sementes x período de envelhecimento, somente para o híbrido Ag-122, pelos resultados de germinação encontrados no teste de deterioração controlada. Na Tabela 6A observaram-se, pelos resultados da análise de variância, valores de F altamente significativos para condições de armazenamento e tratamentos, nos resultados dos testes de germinação, emergência, tetrazólio-viabilidade, tetrazólio-vigor e de frio, efetuados após 12 meses de armazenamento, e para a interação condições de armazenamento x tratamento, nos testes de germinação, e tetrazólio-viabilidade e significativo em emergência e teste de frio, nas sementes do híbrido Ag-122. Nas sementes do híbrido C-901, após 12 meses de armazenamento o teste F foi altamente significativo para condições de armazenamento, em todos os testes efetuados e para tratamento nos de germinação, emergência, tetrazólio-viabilidade e de frio, e para a interação condição de armazenamento x tratamento, em emergência e significativo no de tetrazólio-viabilidade e teste de frio (Tabela 7A).

Observou-se, pelos resultados contidos na Tabela 3, que tanto o teor de água das sementes quanto o período de envelhecimento influenciaram o processo de deterioração. Esses resultados estão de acordo com Basavarajappa *et al.* (1991), que verificaram que o envelhecimento acelerado em sementes de milho levou à perda de integridade das membranas. Os radicais livres produzidos

como um resultado da peroxidação de lipídeos no envelhecimento, reagem com os lipídeos das membranas celulares, destruindo a estrutura destas e também as reservas das sementes, resultando na redução da qualidade das sementes. Assim é que sementes do híbrido Ag-122, com teor de água de 20%, tiveram sua germinação significativamente reduzida à medida que se aumentou o período de envelhecimento independente do tratamento a que foram submetidas. Nas sementes com 13% de umidade, detectaram-se germinações diferentes, apenas quando não submetidas ao tratamento fungicida e envelhecidas por 72 horas.

TABELA 3 Valores médios de germinação de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, com diferentes níveis de dano, com e sem tratamento fungicida, submetidas a deterioração controlada efetuada sob diferentes condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Ag-122						
Umidade						
Nível de Dano/ Trat. Fungicida	13%			20%		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
1 NT	86 Aab	91 Aa	71 Bb	86 Aa	53 Ba	8 Ca
1 T	93 Aa	86 Aa	93 Aa	87 Aa	33 Bb	7 Ca
2 NT	79 Ab	90 Aa	61 Bc	75 Ab	39 Bb	4 Ca
2 T	89 Aa	92 Aa	90 Aa	84 Aa	36 Bb	7 Ca

C-901						
Umidade						
Nível de Dano/ Trat. Fungicida	13%			20%		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
1 NT	97 Aa	93 ABa	90 Bb	98 Aa	96 Aa	76 Bb
1 T	96 Aa	96 Aa	99 Aa	97 Aab	95 ABa	91 Ba
2 NT	98 Aa	97 Aa	95 Aab	95 Aab	96 Aa	95 Aa
2 T	96 Aa	93 Aa	76 Bc	91 Ab	74 Bb	92 Aa

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Nas sementes do híbrido C-901, submetidas ao teste de deterioração controlada com um teor de água de 13%, foi observada diferença significativa em germinação, quando estas continham maior nível de danos (2) e foram tratadas com fungicidas e envelhecidas por um período de 72 horas. Também nas sementes de nível 1 de danos, que não foram submetidas ao tratamento fungicida, envelhecidas por 72 horas, foi encontrada germinação significativamente inferior à daquelas envelhecidas por 24 horas, enquanto nas envelhecidas por 48 horas, os resultados foram semelhantes tanto ao do envelhecimento por 24 quanto ao de 72 horas. Nas sementes do híbrido C-901, submetidas ao envelhecimento com 20% de umidade foi detectada germinação significativamente inferior nos tratamentos dano 1 sem tratamento fungicida, envelhecidas por 72 horas e dano 2 com fungicida por 48 horas. Já, nas sementes com dano 1, tratadas com fungicida, envelhecidas por 72 horas, foi encontrada germinação significativamente inferior à daquelas envelhecidas por 24 horas, enquanto que nas envelhecidas por 48 horas os resultados foram semelhantes tanto ao do envelhecimento por 24 quanto ao de 72 horas.

Verificou-se ainda, pelos resultados contidos na Tabela 3, que o teste de deterioração controlada efetuado sob condições de teor de água das sementes de 13% e envelhecimento por 48 horas, ou 20% de teor de água e envelhecimento por 72 horas, não detectou diferenças significativas na germinação de sementes do híbrido Ag-122, independente do nível de danos e de terem sido submetidas ou não ao tratamento fungicida. Por outro lado, o teste de deterioração controlada efetuado com sementes com 13% de umidade e envelhecimento, por 24 horas detectou qualidade significativamente superior das sementes submetidas ao tratamento fungicida, tanto com nível 1 quanto com nível 2 de danos em relação àquelas com nível 2 de danos e não tratadas; enquanto nas sementes com nível 1 de danos, não submetidas ao tratamento fungicida foi encontrada qualidade

semelhante tanto as primeira quanto as últimas. No entanto, quando o teste foi efetuado por 72 horas, com sementes com 13% de umidade, esse detectou que tanto sementes com nível 1 de danos, quanto as com nível 2 e tratadas com fungicidas, apresentaram-se com germinação significativamente superior às de nível 1 de danos, não submetidas ao tratamento fungicida, que por sua vez, apresentaram-se com germinação significativamente superior àquelas com nível 2 de danos, não tratadas. Esses resultados foram similares, tanto em termos de valores numéricos, quanto em termos de diferenciação e ranqueamento dos tratamentos, aos detectados pelo teste de emergência após 12 meses de armazenamento sob condições controladas para o híbrido Ag-122 (Tabela 4). Quando as sementes foram armazenadas sob condições ambiente, o teste de deterioração controlada, realizado nas condições supra citadas, foi eficiente em diferenciar e ranquear os tratamentos, porém em termos de prever a germinação, os valores numéricos foram em média 45% menores que os detectados pelo teste de deterioração controlada. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Rossetto & Marcos Filho (1995), em soja; Peterson *et al.*, em milho; Powell *et al.* (1997), em ervilha; Larsen *et al.* (1998), em colza e ervilha, que relataram que o teste de deterioração controlada foi eficiente em diferenciar vigor em lotes de sementes.

Para o híbrido C-901, na condição de 13% de umidade das sementes e envelhecimento por 24 horas, o teste de deterioração controlada, apesar de não ter detectado diferenças entre os tratamentos, apresentou resultados similares ao teste de germinação das sementes armazenadas por 12 meses em condições controladas (Tabela 4). Portanto, essas condições de deterioração controlada foram eficientes em prever a capacidade germinativa das sementes desse híbrido, após 12 meses de armazenamento em condições controladas de temperatura e umidade ($\pm 10^{\circ}\text{C}$ e 50% UR).

TABELA 4 Valores médios de germinação (G), emergência (E), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg) e de frio (TF), de sementes de milho das cultivares Ag-122 e C-901, com diferentes tratamentos de dano mecânico e tratamento fungicida, armazenadas por 12 meses, sob condição ambiente (A) e controlada (C). UFLA, Lavras-MG, 2001.

		Ag-122									
Nível de Dano/ Trat. Fungicida	G (%)		E (%)		Tz-va (%)		Tz-vg (%)		TF (%)		
	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	
1 NT	81Ba	96Aa	22Bb	76Ab	86Ba	98Aa	26Ba	81Aa	22Bb	76Ab	
1 T	79Aa	86Aa	51Ba	95Aa	79Bb	98Aa	20Bab	74Aa	51Ba	95Aa	
2 NT	60Bb	92Aa	12Bc	61Ac	71Bc	93Aa	12Bbc	58Ab	12Bc	62Ac	
2 T	65Bb	88Aa	49Ba	90Aa	71Bc	94Aa	8Bc	58Ab	49Ba	90Aa	

		C-901									
Nível de Dano/ Trat. Fungicida	G (%)		E (%)		Tz-va (%)		Tz-vg (%)		TF (%)		
	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	
1 NT	79Ba	99Aa	21Bc	92Aab	85Ba	99Aa	12Ba	81Aa	21Bb	92Aab	
1 T	79Ba	98Aa	47Ba	98Aa	80Ba	100Aa	14Ba	81Aa	47Ba	98Aa	
2 NT	82Ba	97Aa	15Bc	86Ab	79Ba	98Aa	12Ba	77Aa	15Bb	86Aab	
2 T	72Bb	95Aa	32Bb	93Aab	67Bb	95Aa	7Ba	76Aa	32Bab	70Ab	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Já, o teste de deterioração controlada realizado em sementes do híbrido C-901, nas condições de 20% de umidade e tempo de envelhecimento de 24 horas (Tabela 1), apesar de ter detectado porcentagem germinação superior das sementes com nível 1 de danos e não tratadas em relação às com nível 2 de danos, submetidas ao tratamento fungicida, os demais tratamentos não diferiram destes. Por outro lado, quando o teste de deterioração controlada foi efetuado em

sementes com 20% de umidade por um período de 48 horas, este detectou que sementes com nível 2 de danos mecânicos, tratadas com fungicida, apresentaram-se com germinação significativamente inferior aos demais tratamentos. Resultados similares em aspectos de diferenciação e ranqueamento dos tratamentos também foram detectados pelo teste de germinação em sementes após 12 meses de armazenamento sob condições ambiente (Tabela 4). Vale ressaltar, no entanto, que em termos de valores numéricos, nas condições em que o teste de deterioração controlada foi realizado, acima referidas, à exceção do tratamento sementes com nível de dano 2 e tratadas com fungicidas, superestimou o percentual de germinação em relação ao das sementes armazenadas por 12 meses sob condições ambiente. Entretanto, os valores encontrados pelo teste de deterioração controlada nas referidas condições foram numericamente aproximados dos detectados pela germinação após estresse de alta umidade e baixa temperatura (teste de frio), além de determinar a mesma classificação dos tratamentos, quando as sementes foram armazenadas por 12 meses sob condições controladas.

Na condição de 20% de umidade das sementes e nos três períodos de tempo de envelhecimento testados, o teste de deterioração controlada não foi capaz de prever a germinação e/ou emergência das sementes do híbrido C-901 quando armazenadas por 12 meses sob condições de temperatura e umidade relativa controlada. Parece que as sementes do híbrido C-901 são mais resistentes às condições de estresse empregadas no teste de deterioração controlada, em relação às do híbrido duplo Ag-122. Provavelmente, por se tratar de um híbrido simples, com maior grau de heterose, o que confere ao híbrido um maior vigor de sementes. Daí a importância de se determinar o conteúdo de água das sementes e o período de envelhecimento de acordo com o híbrido, pois esses podem variar, como já observado por Powell & Matthews (1981).

Pelos dados contidos nas Tabelas 3 e 4, notou-se que tanto o teste de deterioração controlada efetuado nas condições acima referidas, quanto os testes de emergência e de frio, detectaram que sementes submetidas ao tratamento fungicida têm qualidade fisiológica significativamente superior àquelas com dano 1 não submetidas ao tratamento fungicida e estas, por sua vez, superiores às de dano 2 não tratadas.

O teste de deterioração controlada efetuado nas condições de 13% de umidade das sementes por 24 a 72 horas de envelhecimento e 20% de umidade das sementes, por um período de envelhecimento de 24 horas apresentou correlação com os testes de emergência e de frio efetuados após 12 meses de armazenamento sob condições ambiente, acima de 70% para sementes do híbrido Ag-122 (Tabela 5). Ressaltam-se as correlação em torno de 88% do teste de deterioração controlada nas condições de 13 % de umidade das sementes com período de 24 e 72 horas de envelhecimento com o teste de frio.

Já, para as sementes do híbrido Ag-122 armazenadas sob condições controladas foram detectadas correlações acima de 60% entre o teste de deterioração controlada efetuado nas condições de 13% de umidade, pelo período de envelhecimento de 24 horas, com os testes de tetrazólio-viabilidade; emergência e frio, pelo período de 48 horas com os testes de tetrazólio-viabilidade; tetrazólio-vigor e emergência, e 72 horas com o teste de frio. Ressalta-se, uma correlação de 94% e de 84% do teste de frio com o de deterioração controlada efetuado nas condições de 13% de umidade das sementes envelhecidas por 72 e 24 horas.

TABELA 5 Estimativas de correlações (r) entre os tratamentos de deterioração controlada e os testes de germinação (G), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), emergência (E) e de frio (TF) de sementes de milho das cultivares Ag-122, após armazenamento por 12 meses nas duas condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Condição Ambiente										
Tratamentos	Ag-122					C-901				
	G	Tz-va	Tz-vg	E	TF	G	Tz-va	Tz-vg	E	TF
13% 24h	0,48 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,87 ^{**}	0,77 ^{**}	-0,14 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,14 ^{ns}
13% 48h	0,58 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,22 ^{ns}	-0,26 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,51 ^{ns}	0,77 ^{**}
13% 72h	0,35 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,90 ^{**}	0,87 ^{**}	-0,34 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,65 ^{**}
20% 24h	0,53 [*]	0,48 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,78 ^{**}	0,70 ^{**}	0,01 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,40 ^{ns}	-0,52 [*]	0,15 ^{ns}
20% 48h	0,23 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,30 ^{ns}	-0,23 ^{ns}	-0,44 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,67 ^{**}	0,24 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
20% 72h	0,39 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,36 ^{ns}	-0,54 [*]	-0,35 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,79 ^{**}

Condição Controlada										
Tratamentos	Ag-122					C-901				
	G	Tz-va	Tz-vg	E	TF	G	Tz-va	Tz-vg	E	TF
13% 24h	-0,26 ^{ns}	0,65 ^{**}	0,46 ^{ns}	0,68 ^{**}	0,84 ^{**}	0,18 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,23 ^{ns}
13% 48h	0,32 ^{ns}	0,69 ^{**}	0,71 ^{**}	0,76 ^{**}	0,38 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,88 ^{**}
13% 72h	-0,38 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,94 ^{**}	-0,21 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,59 [*]
20% 24h	-0,27 ^{ns}	0,64 [*]	0,59 [*]	0,77 ^{**}	0,73 ^{**}	0,44 ^{ns}	0,52 [*]	0,50 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,35 ^{ns}
20% 48h	0,35 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,20 ^{ns}	-0,02 ^{ns}
20% 72h	-0,07 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,46 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,67 ^{**}

Observou-se, pelos resultados contidos nas Tabelas 3 e 4, que além do teste de frio, efetuado após 12 meses de armazenamento sob condições controladas, detectar sementes tratadas com fungicida, independente do nível de dano mecânico, como as de qualidade fisiológica significativamente superior às de dano 1 sem fungicida e estas, por sua vez, superiores em qualidade fisiológica que as de dano 2 sem fungicida, de forma igual à detectada pelo teste de deterioração

controlada efetuado nas condições de 13% de umidade, por 72 horas de envelhecimento, anteriormente ao armazenamento, também o resultado desses dois testes foram similares no aspecto de valores numéricos. Esses resultados sugerem que o teste de deterioração controlada, efetuado nas condições supra citadas, foi eficiente não só em diferenciar e classificar lotes do híbrido Ag-122, bem como, em prever a emergência desses lotes sob condições de estresse de baixa temperatura e alta umidade, após 12 meses de armazenamento sob condições controlada (T 10°C e UR \pm 50%). Correlação entre os resultados do teste de deterioração controlada e emergência também foi encontrada por Boersma *et al.* (1996), em soja; Wang *et al.*(1996), em trevo vermelho; Larsen *et al.* (1998), em colza e ervilha; Padilha *et al.* (2001), em milho; em emergência sob estresse hídrico por Wang *et al.* (1996), em alfafa e Padilha *et al.*(2001), em milho. Porém, Hampton *et al.* (1992) não encontrou correlação entre deterioração controlada e emergência em campo, em sementes de feijão.

Por outro lado, as maiores correlações encontradas quando da utilização de sementes do híbrido C-901 armazenadas sob condições ambientes, foram entre os testes de deterioração controlada, efetuado nas condições de 13% de umidade das sementes pelo período de envelhecimento de 48 horas, e frio (88%); deterioração controlada com 20% de umidade de sementes envelhecidas por 48 horas e tetrazólio-vigor (0,52%). Quando as sementes foram armazenadas sob condições controladas foi detectada correlação de 88% entre o teste de frio e o teste de deterioração controlada efetuado com 13% de umidade por um período de 48 horas de envelhecimento. Apesar da correlação de 88%, observou-se, pelos resultados contidos nas Tabelas 3 e 4, que enquanto o teste de frio detectou qualidade fisiológica significativamente inferior para sementes com nível 2 de danos mecânicos, submetidas ao tratamento fungicida, o teste de deterioração controlada nas condições acima citadas, não detectou nenhuma diferença

significativa entre os tratamentos. Provavelmente as sementes desse híbrido, por serem mais vigorosas por causa do alto grau de heterose, por se tratar de um híbrido simples, necessitem de condições mais drásticas de estresse do que as empregadas neste experimento e/ou, as diferenças de qualidade fisiológica entre os tratamentos realmente eram pequenas, pois, segundo sugeriu Powell (1995), a baixa correção entre o teste de deterioração controlada e a performance em campo pode refletir condições favoráveis de campo ou uma faixa limitada de vigor dos lotes de sementes testados.

5 CONCLUSÕES

O teste de deterioração controlada, em sementes com 13% de umidade por 72 horas é eficiente em diferenciar; classificar e prever a emergência, lotes de sementes do híbrido Ag-122, após 12 meses de armazenamento.

Deterioração controlada em sementes com 20% de umidade por 48 horas classifica e diferencia lotes do híbrido C-901, de forma similar aos testes de germinação e de frio, após 12 meses de armazenamento sob condições controlada. Não é eficiente em prever germinação/emergência após armazenamento.

Deterioração controlada em sementes com 13% de umidade por 24 horas classifica e diferencia lotes do híbrido Ag-122, de forma similar ao teste de frio efetuado após 12 meses de armazenamento, sob condições ambiente.

Deterioração controlada em sementes com 13% de umidade, por 72 horas, classifica e diferencia lotes do híbrido Ag-122, de forma similar ao teste de frio e prevê a germinação sob condições adversas de frio e alta umidade, em sementes armazenadas por 12 meses sob condições controladas.

Deterioração controlada em sementes do híbrido C-901, com 13% de umidade, por 24 e 48 horas e do híbrido Ag-122, com 13% de umidade, por 48 horas e 20% de umidade por 24 e 72 horas não detecta diferenças entre os tratamentos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASAVARAJAPPA, B.S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.19, n.2, p.279-286, 1991.

BOERSMA, M.; LAW, M.; ADKINS, S.W. Assessment of soybean seed vigor tests for eastern Australia. **Australia Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, n.36, p.99-103, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes.** Brasília, DF, 1992. 365p.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. Principles of seed science and technology. New York: Chapman and Hall, 1995. p.409.

DELOUCHE, J.C. An accelerated aging technique for predicting relative storability of crimson clover and tall fescue seed lots. **Agron. Abstr.**, p.40. 1965.

HAMPTON, J.G.; COOLBEAR, P. Potential versus actual seed performance – can vigour testing provide an answer? **Seed Science and Technology**, Zurich, v.18, p.215-228, 1990.

HAMPTON, J.G.; JOHNSTONE, K.A.; EVA-UMPON, V. Ageing vigour tests for mungbean and rench bean seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.20, p.643-653, 1992.

ISTA. Handbook of vigour test methods. HAMPTON, J; TEKRONY, D. (eds.). International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. 1995.

ISTA. Handbook of vigour test methods. Zurich, Switzerland, 1981. p.72.

LARSEN, S.U.; POVLSEN, F.V., ERIKSEN, E.N.; PEDERSEN, H.C. The influence of seed vigour on field performance and the evaluation of the applicability of the controlled deterioration vigour test in oil seed rape (*Brassica napus*) and pea (*Pisum sativum*). **Seed Science and Technology**, Zurich, v.26, p.627-641, 1998.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.45-57,

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MATTHEWS, S. Controlled deterioration: A new vigour test for crop seeds. In: HEBBLETHWAIT, P.D. (ed.). **Seed production**, London: Butterworths, 1980. p.647-660.

McDONALD, M.B. Assessment of seed quality. **HortScience**, Alexandria, v.15, n.6, p.784-788, 1980.

MOORE, R.P. **Manual de ensayos al tetrazólio**. Asociacion Internaciona de Ensayos de Semillas, 1985. 91p.

PADILHA, L., VIEIRA, M.G.G.C., VON PINHO, E.V.R.; CARVALHO, M.L.M. Relação entre o teste de deterioração e a performance de sementes de milho em diferentes condições de estresse. **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v.23, 2001.

PETERSON, J.M.; PERDOMO, J.A.; BURRIS, J.S. Influence of kernel position, mechanical damage and controlled deterioration on estimates of hybrid maize seed quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.23, p.647-657. 1995.

POWELL, A.A. The controlled deterioration test. In: VAN DE VENTER, H.A. (ed.). **Seed vigour testing seminar**. Zurich: Switzerland: ISTA. 1995. 24th Congress of the ISTA, Copenhagen, Denmark, July 7th, 1995.

POWELL, A.A.; DON, R.; HAIGH, P.; PHILLIP, G.; TONKIN, J.H.B.; WHEATON, O.E. Assessment of the repeatability of the controlled deterioration vigour test both within and between laboratories. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.12, p.421-427. 1984.

POWELL, A.A.; FERGUSON, A.J.; MATTHEWS, S. Identification of vigour differences among combining pea (*Pisum sativum*) seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.25, p.443-464. 1997.

POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. Evaluation of controlled deterioration, a new vigour test for small seeded vegetables. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.9, p.633-640. 1981.

ROBERTS, E.H. Quantifying seed deterioration. In: **McDONALD, M.B.; NELSON, C.J.** (eds.). **Physiology of seed deterioration.** Madison: Crop Science Society of America, 1986. p.101-123. **CCSA Special Publication**, 1

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. **Science Agriculture**, v.52, n.1, p.123-131. 1995.

VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.L.M.; MACHADO, J.C. **Controle de qualidade de sementes.** Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 113p.

WANG, Y.R.; HAMPTON, J.G.; HILL, M.J. Red clover vigour testing – Effect of three test variables. **Seed Science and Technology**. Zurich, v.22, p.99-105.1994.

WANG, Y.R.; YU, L.; NAN, Z.B. Use of seed vigour tests to predict field emergence of lucerne (*Medicago sativa*). **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v.39, p.255-262. 1996.

ANEXOS

Página

TABELA 1A	Resumo da análise de variância referente aos testes de tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), germinação (G), teste frio (TF), condutividade elétrica (CE), emergência em canteiro (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	165
TABELA 2A	Resumo da análise de variância da incidência de fungos em sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	166
FIGURA 1A	Condições ambientais de temperatura média e umidade relativa do local de armazenamento das sementes de milho. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	167
TABELA 3A	Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de primeira contagem (PC), germinação, tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), tetrazólio-nota média (Tz-nm), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), de frio (TF) e T- 50, de sementes de milho do híbrido Ag-122, em diferentes condições e períodos de armazenamento, níveis de dano e tratamento fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	168
TABELA 4A	Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de primeira contagem (PC), germinação, tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), tetrazólio-nota média (Tz-nm), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE),	

emergência (E), de frio (TF) e T- 50, de sementes de milho do híbrido C-901, em diferentes condições e períodos de armazenamento, níveis de dano e tratamento fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	169
FIGURA 2A Grau de umidade das sementes de milho, armazenadas em ambiente não controlado e em câmara com controle de umidade relativa e temperatura, ao longo de 12 meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	170
TABELA 5A Resumo da análise de variância da germinação de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, com diferentes níveis de dano mecânico, tratadas ou não com fungicida, submetidas a diferentes tratamentos deterioração controlada. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	171
TABELA 6A Resumo da análise de variância da germinação (G), emergência (E), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg) e teste de frio (TF) de sementes de milho do híbrido Ag-122, com diferentes níveis de dano mecânico, tratadas ou não com fungicida, após 12 meses de armazenamento, sob diferentes condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	172
TABELA 7A Resumo da análise de variância da germinação (G), emergência (E), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg) e teste de frio (TF) de sementes de milho do híbrido C-901, com diferentes níveis de dano mecânico, tratadas ou não com fungicida, após 12 meses de armazenamento, sob diferentes condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.....	173

TABELA 1A Resumo da análise de variância referente aos testes de tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), germinação (G), teste frio (TF), condutividade elétrica (CE), emergência em canteiro (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fator de Variação	GL	Valores de Quadrados Médios						
		Tz-va (%)	Tz-vg (%)	G (%)	TF (%)	CE $\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$	E (%)	IVE
Tratamentos (T)	5	60,733**	93,671**	215,521**	165,521**	5,500 ^m	144,571**	6,776**
Híbridos (H)	1	234,083**	1376,021**	88,021**	4981,688**	115,320**	157,688**	2,046*
TXH	5	4,583 ^m	11,671 ^m	30,821**	12,588 ^m	1,748 ^m	49,738**	2,657**
Desvio padrão		2,7	4,3	2,7	4,7	1,8	3,0	0,7
Coef. de variação		2,86	5,09	3,03	17,44	10,97	3,34	3,71

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente.

TABELA 2A Resumo da análise de variância da incidência de fungos em sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fator de Variação	GL	Valores de Quadrados Médios				Total
		<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>A. flavus</i>	
Tratamentos (T)	5	21,562**	32,175**	5,669**	26,240**	23,218**
Híbridos (H)	1	7,912**	6,024**	47,833**	3,749*	58,640**
TXH	5	0,514 ^{ns}	1,477**	0,467 *	1,060 ^{ns}	0,972 *
Desvio padrão		1,0	0,5	0,4	0,9	0,6
Coef. variação		44,85	13,38	6,58	51,23	7,23

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente.

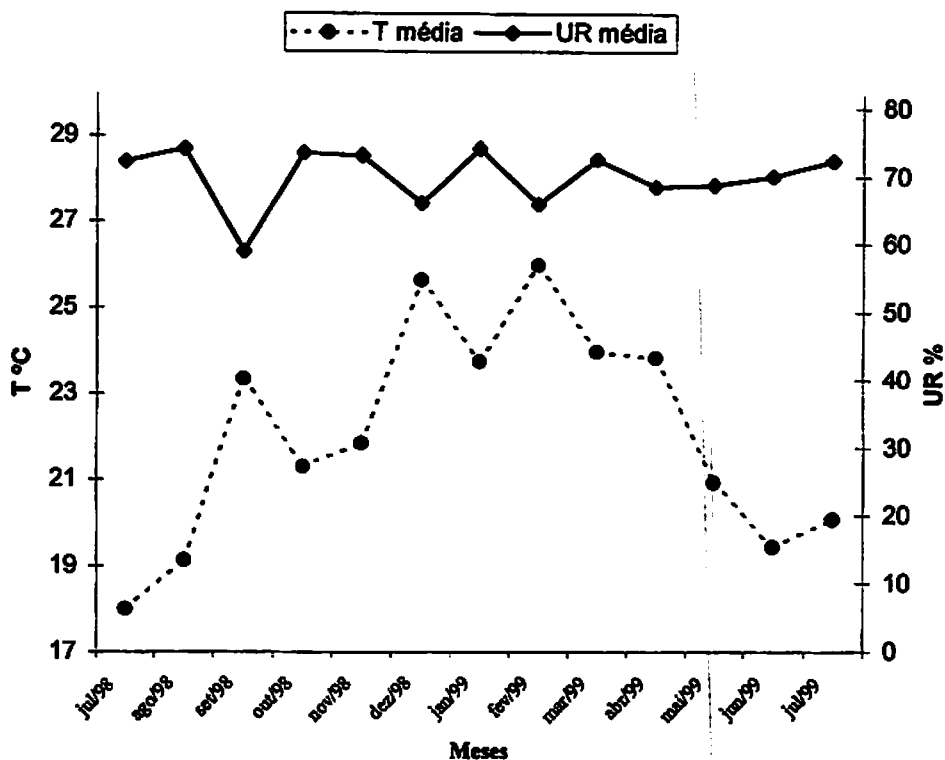


FIGURA 1A Condições ambientais de temperatura média e umidade relativa média do local de armazenamento das sementes de milho, no período de julho/1998 a julho/1999. UFLA, Lavras-MG, 2001.

TABELA 3A Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de primeira contagem (PC), germinação, tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), tetrazólio-nota média (Tz-nm), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), de frio (TF) e T- 50, de sementes de milho do híbrido Ag-122, em diferentes condições e períodos de armazenamento, níveis de dano, e tratamento fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.

FV	GL	Valores de Quadrados Médios									
		PC (%)	G (%)	Tz-va (%)	Tz-vg (%)	Tz-nm	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}^2/\text{g}$)	IVE	E (%)	TF (%)	T-50
Armazém	1	4405,641**	1511,266**	1491,891**	10506,250**	15,900**	269,698**	31,725**	1580,063**	8977,563**	3,539**
Dano (D)	1	907,516**	682,516**	937,891**	4192,563**	7,494**	804,270**	5,313**	297,563**	992,250**	0,041
Fungicida	1	102,516	34,516	13,141	6,250	0,001	42,478**	5,546**	420,250**	42745,563**	0,086
AxD	1	276,390**	276,391**	58,141*	45,563	0,000	1,452	0,106	6,250	10,563	0,017
AxF	1	0,016	66,016	17,016	1,000	0,035	0,439	2,117**	162,563**	100,000*	0,002
DxF	1	17,016	34,516	3,516	0,063	0,008	0,490	0,047	1,563	105,063*	0,024
AxDxF	1	6,891	0,141	11,391	7,563	0,001	1,776	0,052	4,000	1,000	0,008
Tempo	1	6621,891**	3349,516**	1130,641**	22350,250**	24,133**	759,140**	42,088**	2162,250**	324,000**	17,819**
TxA	1	4405,641**	1511,266**	1491,891**	10506,250**	15,900**	269,699**	31,725**	1580,063**	8977,563**	3,539**
TxD	1	199,516*	102,516*	0,391	3,063	0,013	19,184**	2,528**	138,063**	0,250	0,062
TxF	1	102,516*	34,516*	2,641	342,250**	0,263**	0,636	2,528**	196,000**	8695,563**	0,001
TxAxD	1	276,391**	276,391**	58,141**	45,563	0,000	1,452	0,106	6,250	10,563	0,017
TxAxF	1	0,016	66,016	34,516	1,000	0,035	0,439	2,117**	162,563**	100,000*	0,002
TxDxF	1	26,266	47,266	34,516*	85,563*	0,214**	12,674*	0,400*	33,063**	52,563	0,000
TxAxDxF	1	6,891	0,141	11,391	7,563	0,001	0,000	0,052	4,000	1,000	0,008
CV 1 (%)		4,76	4,96	3,24	6,85	4,66	7,83	2,53	2,56	6,71	4,30
CV 2 (%)		5,10	4,78	2,62	7,33	4,05	7,07	2,07	2,14	7,72	4,81

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente.

TABELA 4A Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de primeira contagem (PC), germinação, tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg), tetrazólio-nota média (Tz-nm), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), de frio (TF) e T- 50, de sementes de milho do híbrido C-901, em diferentes condições e períodos de armazenamento, níveis de dano, e tratamento fungicida. UFLA, Lavras-MG, 2001.

FV	GL	Valores de Quadrados Médias									
		PC (%)	G (%)	Tz-va (%)	Tz-vg (%)	Tz-nm	CE (uS/cm ² /g)	IVE	E (%)	TF (%)	T-50
Armazém (A)	1	3436,891**	1463,063**	1650,391**	18258,766**	23,281**	233,555**	50,392**	1947,016**	16002,250**	2,894**
Dano (D)	1	23,766	49,000**	221,266**	221,266**	0,810**	165,380**	2,135**	172,266**	945,563**	0,081
Fungicida (F)	1	58,141*	45,563*	147,016**	23,766	2,776	73,702**	0,538**	11,391	22126,563**	0,007
AxD	1	5,641	0,063	43,891*	1,891	0,010	0,018	0,362*	43,891**	22,563	0,002
AxF	1	19,141	12,250	54,391*	0,141	0,040	2,967	0,826**	28,891**	232,563**	0,009
DxF	1	2,641	18,063	50,766*	92,641*	0,076	0,018	0,071	0,766	1,000	0,102
AxDxF	1	3,5156	20,250	3,516	8,266	0,001	0,219	0,088	3,516	25,000	0,004
Tempo	1	4472,266**	2162,250**	2013,766**	31284,766**	39,376**	625,000**	63,581**	2665,141**	420,250**	17,483**
TxA	1	3436,891**	1463,063**	1650,391**	18258,766**	23,281**	233,555**	50,392**	1947,016**	16002,250**	2,894**
TxD	1	0,141	6,250	107,641**	0,141	0,010	24,354**	1,992**	172,266**	5,0625	0,016
TxF	1	37,516*	27,563*	58,141*	92,641	0,250**	5,382	0,353*	11,391	8418,063**	0,013
TxAxD	1	5,641	0,063	43,891*	1,891	0,010	0,187	0,362*	43,891**	22,563	0,002
TxAxF	1	19,141	12,250	54,391*	0,141	0,040	2,967	0,826**	28,891**	232,563**	0,009
TxDxF	1	9,766	33,0625**	13,141	8,266	0,006	0,384	0,021	0,016	56,250	0,074
TxAxDxF	1	3,516	20,250	3,516	8,266	0,001	0,219	0,088	3,516	25,000	0,004
CV 1 (%)		3,14	2,64	3,16	6,12	5,57	5,67	2,06	1,93	6,62	7,82
CV 2 (%)		2,62	2,04	3,10	7,72	6,13	4,73	2,19	2,21	8,01	7,56

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente.

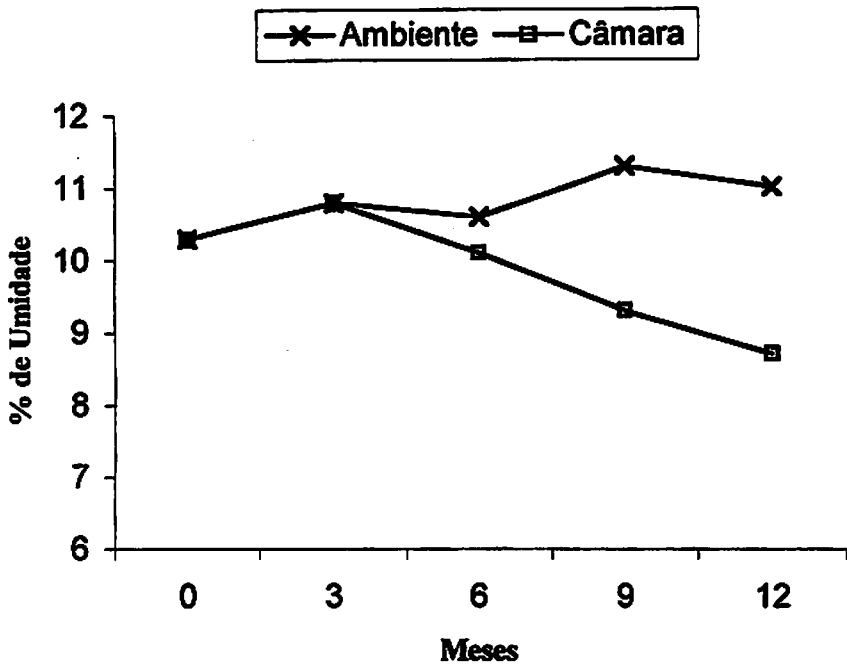


FIGURA 2A Grau de umidade das sementes de milho, armazenadas em ambiente não controlado e em câmara com controle de umidade relativa e temperatura, ao longo de 12 meses de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2001.

TABELA 5A Resumo da análise de variância da germinação de sementes de milho dos híbridos Ag-122 e C-901, com diferentes níveis de dano mecânico, tratadas ou não com fungicida, submetidas a diferentes condições de deterioração controlada. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fator de Variação	GL	Valores de Quadrados Médios	
		Ag -122	C-901
Tratamento (T)	3	31,458**	439,344**
Umidade (U)	1	41583,375**	137,760**
Período (P)	2	14054,823**	361,573**
TxU	3	391,069**	56,038
TxP	6	230,156**	118,615**
UxP	2	9606,469**	29,823
TxUxP	6	101,080**	262,642**
CV (%)		7,70	3,67

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente.

TABELA 6A Resumo da análise de variância da germinação (G), emergência (E), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg) e teste de frio (TF) de sementes de milho do híbrido Ag-122, com diferentes níveis de dano mecânico, tratadas ou não com fungicida, após 12 meses de armazenamento, sob diferentes condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fator de Variação	GL	Valores de Quadrados Médios				
		G (%)	E (%)	Tz-va (%)	Tz-vg (%)	TF (%)
Armazém (A)	1	3022,531**	17955,125**	2983,781**	21012,500**	17955,125**
Tratamento (T)	3	269,115**	2368,750**	177,365**	794,750**	2368,750**
AxT	3	228,365**	74,375*	57,698**	36,083	74,375*
CV		6,96	8,36	3,18	11,11	8,36

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente

TABELA 7A Resumo da análise de variância da germinação (G), emergência (E), tetrazólio-viabilidade (Tz-va), tetrazólio-vigor (Tz-vg) e teste de frio (TF) de sementes de milho do híbrido C-901, com diferentes níveis de dano mecânico, tratadas ou não com fungicida, após 12 meses de armazenamento, sob diferentes condições. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Fator de Variação	GL	Valores de Quadrados Médios				
		G (%)	E (%)	Tz-va (%)	Tz-vg (%)	TF (%)
Armazém (A)	1	2926,125**	32004,500**	3300,781**	36517,531**	26507,531**
Tratamento (T)	3	55,708**	735,042**	190,531**	50,115	876,281**
AxT	3	21,708	186,750**	67,865*	6,835	528,948*
CV		3,30	8,20	4,58	11,82	21,27

* e ** teste F significativo a 5 e 1 % de probabilidade respectivamente