



**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE
MILHO DOCE**

REGINALDO DE CAMARGO

2003

Handwritten scribble or signature

18.67116

18.67116

18.67116

REGINALDO DE CAMARGO

ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE MILHO DOCE

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

Orientadora

Prof. Dr.^a. Maria Laene Moreira de Carvalho

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003**

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

Camargo, Reginaldo de

**Armazenamento de sementes de milho doce / Reginaldo de
Camargo. – Lavras : UFLA, 2003.**

81 p. : il.

Orientadora: Maria Laene Moreira de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

**1. Milho doce. 2. Semente. 3. Marcador isoenzimático. 4. Deterioração.
5. Embalagem. 6. Armazenamento. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.**

**CDD-633.1521
633.1568**

REGINALDO DE CAMARGO

AMAZENAMENTO DE SEMENTES DE MILHO DOCE

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

APROVADA em 17 de outubro de 2003

Dr^a. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

Prof^a. Dr^a. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias

Prof^a. Dr^a. Édila Vilela de Resende Von Pinho

Prof. Dr. Flávio Meira Borém



Prof. Dr^a. Maria Laene Moreira de Carvalho
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

Aos meus pais, José Bueno de Camargo
e Ana Maria de Camargo,
pelo amor, carinho e orações.

OFEREÇO E DEDICO

Em meio a tanto conhecimento, é triste observar o quanto o homem se afasta de Deus na medida em que desvenda os mistérios da criação divina.

Talvez por se julgar superior aos demais semelhantes ou nem tão diferente assim do criador, fé e conhecimento travam uma batalha sem tréguas nos mais íntimos pensamentos da criação.

Perante o criador, sábios e ingênuos não passam de criação, dos quais serão cobrados na medida dos dons que lhes foram oferecidos. Na imensidão da sabedoria, o homem seca quando não compartilha com o semelhante o amor de Deus.

Ao capacitar os escolhidos ao invés de escolher os capacitados, Deus ao certo não distingue cor, raça ou inteligência, mas avalia o quanto este é amado pelos seus semelhantes, pois ninguém ama a Deus, a quem nunca se viu sendo indiferente aos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, expressão maior do amor que guia nossos passos.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À professora orientadora Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, exemplo de dedicação à pesquisa, pelo crescimento pessoal e profissional, amizade sincera, incentivo e compreensão.

Aos professores Dr. Renato Mendes Guimarães e Dr. Flávio Meira Borém pela coorientação.

Aos demais professores do Setor de sementes, pela dedicação em transmitir seus conhecimentos e pela amizade.

À funcionária "Dona Elza", exemplo de perseverança e humildade, provando que nunca é tarde para quem a oportunidade do saber é um dos maiores presentes de Deus.

Ao fiel amigo e Bolsista do PIBIC, Maurílio Peixoto, pela colaboração na condução dos ensaios, a quem o futuro ao certo reserva uma carreira brilhante.

Ao amigo Gilberto de Miranda Lima pela amizade sincera e pelo apoio incondicional nos momentos mais difíceis.

Aos demais colegas de curso do Setor de Sementes pela amizade, colaboração e excelente convívio.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 Características das sementes de milho doce.....	03
2.2 Deterioração de sementes.....	07
2.3 Marcadores isoenzimáticos de deterioração em sementes.....	11
2.4 Armazenamento de sementes.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Caracterização dos tratamentos.....	23
3.1.1 Análise das sementes.....	25
3.1.2 Delineamento estatístico.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS	78

RESUMO

CAMARGO, R. de. Armazenamento de sementes de milho doce. Lavras: UFLA, 2003. 81 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia)*.

A preservação da qualidade inicial de sementes durante o período de armazenamento pode ser alcançada pelo uso de condições especiais de ambiente e métodos adequados de embalagem. Com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes tipos de embalagens e ambientes de armazenamento sobre a qualidade de sementes de milho doce, ao longo de um período de 18 meses de armazenamento, em relação a possíveis alterações fisiológicas, sanitárias e isoenzimáticas, a pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análise de Sementes da UFLA, utilizando sementes do híbrido triplo DO-04. Foram estudados os efeitos de três métodos de acondicionamento: papel tipo kraft trifoliado, plástico e acondicionamento a vácuo sob duas condições de ambiente, sendo elas câmara refrigerada (10°C e 50% UR) e armazém convencional. A qualidade das sementes foi avaliada antes do armazenamento e após 6, 12 e 18 meses pelos testes de germinação (primeira contagem e resultado final), índice de velocidade de germinação, índice de velocidade de emergência, teste de frio e teste de sanidade. Foram avaliadas alterações nos sistemas enzimáticos: álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH) e glutamato-oxalacetato transaminase (GOT). Pelos resultados, foi verificado que a condição de câmara refrigerada é mais eficiente para a preservação da qualidade fisiológica de sementes de milho doce em relação ao ambiente natural, condição na qual foi observada acentuada perda em vigor e viabilidade das sementes. Dentro da condição de ambiente controlado, o acondicionamento de sementes tratadas em embalagem de papel se mostrou como o melhor método para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes ao longo de 18 meses. Para o armazenamento em ambiente natural, a embalagem a vácuo é a melhor condição para a preservação da qualidade fisiológica das sementes. Foi verificado, pelos testes fisiológicos, que a pior condição para a conservação de sementes de milho doce é a oferecida pelo acondicionamento em embalagem de papel em ambiente de armazém convencional. Com relação aos sistemas enzimáticos, foi observado que a restrição ao oxigênio imposta as sementes pela condição de vácuo não provocou a ativação da rota anaeróbica de respiração nem revelou mudanças em padrões enzimáticos da malato desidrogenase, enzima associada à respiração aeróbica.

¹Comitê Orientador: Dr^a Maria Laene Moreira de Carvalho (Orientadora), Dr. Renato Mendes Guimarães, Dr. Flávio Meira Borem.

ABSTRACT

CAMARGO, R. de. Storage of sweet corn seeds. Lavras: UFLA, 2003. 81p. (Thesis – Doctorate in Agronomy, Major Crop Science)*.

The preservation of the initial quality of seeds during the storage period may be reached by the use of special environmental conditions and adequate packing methods. With the view to evaluating the effect of different sorts of packages and storage environments on the quality of sweet corn seeds along a period of 18 months storage relative to the possible physiological, sanitary and isoenzyme alterations, this research was conducted in the UFLA Seed Analysis Laboratory by utilizing seeds of the triple hybrid DO-04. The effects of three packing methods: trifoliate Kraft type paper, plastic and vacuum packing under two environmental conditions were studied, their being refrigerated chamber (10C and 50% RH) and conventional storage. The quality of the seeds was evaluated before storage and after 6, 12 and 18 months by the tests of germination, (first count and final result), emergence velocity index, cold test and health test. Alterations in the enzyme systems: alcohol dehydrogenase (ADH), malate dehydrogenase (MDH) and glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT) were assessed. From the results, it was found that the conditions of the refrigerated chamber is the most efficient for the preservation of the physiological quality of sweet corn seeds relative to the natural environment, condition in which a marked vigor and viability loss in seeds was observed. Within the condition of controlled environment, packing of paper package- treated seeds proved the best method for the maintenance of the physiological quality of the seeds along 18 months. For the storage in natural environment, vacuum package is the best condition for the preservation of the physiological quality of seeds. It was verified by the physiological tests that the worst condition for sweet corn seed conservation is the one provided by the packing in paper package in a convention storage environment. As regards the enzyme systems, it was observed that the oxygen restriction imposed to the seeds by the vacuum condition did not provoke either the activation of the anaerobic pathway of respiration or reveal changes in enzyme standards of malate dehydrogenase, an enzyme associated with aerobic respiration .

Guidance Committee: Dr^a. Maria Laene Moreira de Carvalho (Adviser), Dr. Renato Mendes Guimarães, Dr. Flávio Meira Borém.

1 INTRODUÇÃO

O milho é uma das culturas mais plantadas no Brasil, atualmente com uma produção superior a 36 milhões de toneladas/ano, distribuída especialmente nas regiões sul, sudeste e centro-oeste (Agrianual, 2003). O mercado de sementes de milho comum e especiais gera uma receita anual em torno de 270 milhões de dólares e configura-se como o terceiro maior do mundo (Rosinha, 2000).

Dentre os chamados milhos especiais, por possuírem características que os diferenciam do milho comum, principalmente quanto ao fim a que se destinam, destaca-se o milho tipo doce, o qual, como sugere o próprio nome, apresenta elevados teores de açúcares no endosperma em detrimento do amido. Tal característica, hoje explorada em especial pela indústria de conservas e enlatados em substituição ao milho comum, é condicionada por um conjunto de genes, os quais, individualmente ou em conjunto, podem promover variações marcantes como textura, forma e composição do endosperma.

Não apenas quimicamente, algumas das diferenças em relação ao milho comum fazem com que as sementes de milho doce sejam consideradas problemáticas, principalmente em relação à tolerância ao armazenamento e ao baixo vigor das sementes (Azanza et al., 1996), a ponto, por exemplo, de ser tolerado um limite mínimo de 65% de germinação para comercialização de sementes de milho doce no Estado de Minas Gerais.

É no período compreendido entre a colheita e o plantio subsequente que as sementes ficam sujeitas a uma série de eventos deteriorativos bioquímicos e fisiológicos, estando a velocidade com que o estes processos ocorrem diretamente relacionada às condições de armazenamento (Bewley & Black, 1994).

As sementes de milho doce geralmente são menos uniformes e mais sujeitas a danos que as sementes de milho comum (Styer & Cantliffe, 1983). A fragilidade do sistema de membranas após a secagem, as características texturais do endosperma, a susceptibilidade a fungos patogênicos e a baixa concentração de reservas das sementes são ainda citadas como características que contribuem para a baixa qualidade destas sementes (Styer & Cantliffe, 1984; Silva, 1994; Guissem et al., 2001a).

A pesquisa tem continuamente dado suporte às empresas de sementes, no contínuo aperfeiçoamento das técnicas de produção. O armazenamento em condição de ambiente controlado, hoje praticado por grande parte das empresas do setor sementeiro, é um bom exemplo e reflete a preocupação com a preservação da qualidade. Cuidados com relação ao tipo de embalagem, grau de umidade das sementes, período de armazenamento, temperatura e umidade relativa do ar e tratamento de sementes devem ser considerados segundo as características da espécie. No caso das sementes de milho doce, até o momento têm-se utilizado as mesmas condições de armazenamento empregadas para o milho comum. As diferenças entre ambas, no entanto, sugerem a adoção de metodologia específica para o milho doce.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar os efeitos de diferentes tipos de embalagens e ambientes de armazenamento sobre a qualidade de sementes de milho doce, armazenadas ao longo de um período de 18 meses, em relação a possíveis alterações fisiológicas, sanitárias e isoenzimáticas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características das sementes de milho doce.

O milho doce difere do milho comum não somente por características taxonômicas, mas pelo alto teor de açúcares e pela baixa concentração de amido nos grãos, resultantes da ação de genes recessivos individuais ou em combinações duplas ou triplas. Aliado a essas combinações gênicas particulares, o milho doce, em razão do intenso processo de seleção, apresenta ainda sementes com pericarpo fino, característica de grande interesse para a indústria de alimentos (Tosselo, 1987; Silva, 1994).

A origem do milho doce, especialmente a relação entre os tipos modernos cultivados e os originários da América Central, ainda não está bem definida. Tracy (1994) relata que duas principais teorias sustentam o seu surgimento. A primeira propõe que o milho doce é descendente do Maiz Dulci (raça mexicana), portanto seria aparentado do Chullpi, cuja raça mais pura é encontrada na região centro-sul dos Andes. A segunda sugere que o milho doce do norte da América é de origem recente, resultante de uma mutação do gene *sugary* do milho comum.

Tracy (1994) tem sido o mais forte defensor da origem independente, baseando esta conclusão em três pontos importantes: a ausência de milho doce em coleções arqueológicas, a observação de mutações espontâneas para o gene *sugary* em campos de milho comum e o fato de não haverem escrituras relatando a existência deste tipo de milho nos E.U.A até século XIX. Em função de o milho doce ter aparecido subitamente na região oeste dos EUA mais de 200 anos depois dos colonizadores ingleses ali chegarem, é mais provável que o milho doce seja resultado de mutações recentes. Para Machado (1980), é pouco provável que o milho doce tenha ocorrido na natureza como uma raça selvagem, similarmente a outros tipos de milho, podendo na verdade ser considerado como

um produto de mutação seguido de domesticação. Ainda segundo o último autor, a primeira referência escrita feita ao milho doce foi no Thomas Jefferson's Garden Book de 1810. Já as primeiras novas variedades foram desenvolvidas por cruzamentos do milho doce com milho do tipo duro adaptado as condições locais nos Estados Unidos.

Existem diferentes genes mutantes que podem individualmente promover variações marcantes nas características de textura, forma e composição química do endosperma (Creech & Mcardle, 1966; Creech, 1968). Dos mutantes de milho que comprovadamente afetam o desenvolvimento do endosperma, 14 foram testados para serem utilizados no melhoramento do milho doce, dos quais pelo menos 8 têm sido usados comercialmente. Estes mutantes podem ser divididos basicamente em duas classes, sendo a primeira composta por brittle-1 (*bt1*), brittle-2 (*bt2*), shrunken-1 (*sh*), shrunken-2 (*sh2*) e shrunken-4 (*sh4*), que acumulam açúcares em detrimento do amido. A classe 2 inclui amilose extender (*ae*), dull (*du*), sugary-2 (*su2*) e waxy (*wx*), que resultam menores aumentos no conteúdo total de açúcar (Creech, 1965; Douglass et al., 1993).

O padrão de milho doce homozigoto para o gene recessivo (*su₁*) possui níveis elevados de polissacarídeos solúveis em água no endosperma (primariamente fitoglicogênio) (Wann et al., 1971), que é muito mais ramificado que a amilopectina, componente do milho com endosperma amiláceo (Peat et al., 1956; Azanza et al., 1996).

O endosperma do tipo shrunken-2 (*sh2*), presente no milho super doce é um dos mais frequentemente utilizados pelo melhoramento, juntamente com o *su₁*, talvez por possuir níveis de açúcares redutores, sacarose e polissacarídeos solúveis em água superiores aos demais. Por outro lado, a porcentagem de amido e o teor de matéria seca também são sensivelmente mais baixos (Azanza et al., 1996).

A maior proporção de açúcares no milho doce em substituição ao amido deve-se à inexistência ou menor atividade de um grupo específico de enzimas que convertem açúcares em amido quando esses são transferidos durante a fase de enchimento de grãos (Dickinson & Preiss, 1969). Tsai & Nelson (1966) citam, por exemplo, que o gene *sh2*, localizado no cromossomo 3, afeta a atividade da adenosina difosfoglicose pirofosforilase (ADP-glicose pirofosforilase) no endosperma. Esta enzima desempenha um papel chave na biosíntese do amido, catalisando a reação $ATP + \text{glicose-1-fosfato}$ para formar $(ADP\text{-glicose} + PPI)$, razão pela qual mutantes *sh2* acumulam menos amido e de 7 a 10 vezes mais sacarose do que os genótipos normais (Preiss, 1978). Foi verificado, no entanto, que o gene mutante *sh2* não modifica os níveis da enzima ADP-glicose pirofosforilase no embrião (Hannah & Nelson, 1976).

As sementes portadoras do gene mutante *sh2* comumente apresentam maiores problemas em relação a danos que as sementes do milho comum (Styer & Cantliffe, 1983). Harris & DeMason (1989) concluíram que o baixo vigor está associado com o inadequado controle da mobilização de reservas pela camada de aleurona. Diversos fatores combinados, no entanto, provavelmente contribuem para a baixa qualidade destas sementes. O padrão de comercialização de sementes fiscalizadas de milho doce em Minas Gerais é de 65% de germinação e do milho comum é de 85% de germinação, o que evidencia os problemas de baixa qualidade das sementes de milho doce.

O sistema de membranas desempenha uma função essencial na regulação de vários processos bioquímicos na germinação da semente. A fragilidade neste sistema, aliada ao alto potencial osmótico (em função do nível elevado de solutos) no endosperma, provavelmente apresenta relação com a baixa taxa de germinação e vigor de plântulas (Parera et al., 1996).

Segundo Araújo (1999), como o teor de polissacarídeos solúveis em água é o mesmo em relação ao milho normal, mas o teor de amido é muito

baixo, os grãos destes mutantes apresentam, após a secagem, um total colapso do endosperma, resultando em sementes completamente enrugadas. Styer et al. (1989) descrevem, por exemplo, que sementes com genótipos *sh2* não sofrem queda no vigor quando colhidas mais cedo e secadas lentamente sob condições controladas. Parera et al. (1996) concluíram que a maioria das diferenças verificadas no vigor de mutantes *sh2* foi atribuída ao genótipo do endosperma. Wann (1986) comparou a perda de solutos durante a embebição de sementes de híbridos com genótipos super doce (*shrunken-2*), doce (*sugary*) e uma combinação tripla recessiva dos genes *amylose extender (ae)*, *dull (du)* e *waxy (wx)*. Os resultados sugeriram que o pericarpo e as membranas celulares de sementes em genótipos com altas concentrações de açúcares são mais susceptíveis a danos por embebição.

Outra importante característica bastante relacionada ao baixo estabelecimento de estandes é a pequena reserva de energia das sementes em função da baixa concentração de amido (Douglas et al., 1993). Foram comparadas, por estes autores, sementes com 24 diferentes genótipos de milho doce, sendo que os piores desempenhos foram obtidos pelos materiais mais pobres em amido, ou seja, com maior concentração de açúcares, tendo sido avaliada a porcentagem de frutose, glicose, sacarose e maltose.

Azanza et al. (1996), estudando o conteúdo de fitoglicogênio, açúcares e amido em endospermas de mutantes *su1*, *su1se1* e *sh2* aos 18 e 22 dias após a polinização, encontraram uma correlação negativa entre emergência a campo e concentração de açúcar em grãos imaturos, que se refletiu também nas sementes quando estas atingiram a maturidade fisiológica. Uma das bases que sustentam a hipótese de que o baixo desempenho germinativo de sementes de milho doce (em especial mutantes *sh2*) está associado ao tipo e à disponibilidade de reserva no endosperma é o fato de não haverem evidências da expressão do gene *sh2* no embrião (Bernal-Lugo & Leopold, 1992). He & Burris (1992) não detectaram

diferenças no vigor entre embriões isolados de milho doce e superdoce, indicando uma similar fisiologia entre estes. No entanto, a sacarose originada do endosperma mutante foi esgotada aos 4 dias após a emergência, indicando que a insuficiência em energia para suprir o rápido consumo pelo embrião pode ser um importante fator limitante ao crescimento de plântulas em genótipos *sh2*.

Os efeitos provocados pelo tipo e quantidade de reservas do endosperma podem ser fatores limitantes não apenas à germinação inicial, mas também interferir posteriormente na deterioração da semente, na produção e translocação de fotoassimilados e, mais indiretamente, afetar a produção, como descrito por Treat & Tracy (1994).

A alta susceptibilidade a patógenos de solo é outra característica comum a todos os genótipos de milho doce (Parera & Cantliffe, 1994), pois o pericarpo fino e frequentemente trincado pode favorecer a rápida colonização microbiana nas sementes. Em um estudo que utilizou 11 lotes para a determinação das principais espécies de fungos associados a sementes de milho doce, Guissem et al. (2001b) observaram maior porcentagem de sementes infectadas por *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, *Cladosporium* spp e *Penicillium* spp. Os autores destacam que a presença desses patógenos, associados às sementes de milho doce, demonstra a necessidade de cuidados de modo a preservar a qualidade fisiológica e sanitária, bem como assegurar a uniformidade de germinação e desenvolvimento da cultura no campo.

2.2 Deterioração de sementes.

Os avanços nos estudos sobre deterioração de sementes têm ocorrido na medida em que são aperfeiçoados instrumentos que proporcionam pesquisar as causas ou origens do processo de envelhecimento. Assim, desde as primeiras enzimas investigadas em relação aos processos deteriorativos em sementes por Crocker & Harrington (1918) até os dias atuais, foi possível identificar diversas

reações químicas envolvidas na perda do vigor e da viabilidade. Ao que parece, a seqüência de eventos metabólicos que atua no sentido de provocar alterações que conduzem à morte de células, tecidos e organelas tem início logo após a maturidade fisiológica (Nkang et al., 2000). O uso de técnicas mais avançadas, como, por exemplo, a análise da integridade de membranas isoladas e as propriedades oxidativas de mitocôndrias extraídas de células de sementes envelhecidas artificialmente (Benamar et al., 2003), tem permitido identificar os pontos em que se iniciam os eventos que desencadeiam a perda do vigor até a morte das sementes.

A deterioração das sementes é descrita como um processo degenerativo contínuo, que se inicia logo após a maturidade fisiológica e continua até a sua morte ou incapacidade de germinar. As dimensões das mudanças que ocorrem neste processo dependem especialmente do período de tempo e das condições de armazenamento, podendo resultar na redução da emergência final e num baixo desenvolvimento das plantas no campo (Bingham et al., 1994). O envelhecimento, então, pode ser resumido como a soma dos processos deteriorativos que, em seqüência, provocam a morte da semente (Matthews, 1985), isto por que, de acordo com McDonald (1998), macromoléculas essenciais para a germinação são degradadas durante o envelhecimento. Em sementes de milho, amendoim e girassol, por exemplo, Kashinath & Subatra (2003) determinaram, juntamente com a diminuição na capacidade de germinação, a ocorrência de significativas reduções nos níveis de carboidratos, lipídios e proteínas ao longo de 12 meses de armazenamento.

Segundo Roberts (1973), a carência de informações em relação às causas da deterioração está associada em grande parte, ao elevado número de mudanças metabólicas e citológicas que acontecem durante este processo. Assim, apesar de diversas teorias tentarem explicar a deterioração das sementes,

as reais causas e seus mecanismos permanecem ainda obscuros (Zhang et al., 1994).


É relativamente fácil encontrar associações diretas ou indiretas entre diferentes processos fisiológicos e bioquímicos comuns em sementes em deterioração. Entre os muitos eventos que têm sido identificados ou sugeridos como básicos na deterioração de sementes estão o aumento na atividade de enzimas como RNAses (Kalpana & Madhava Rao, 1997; Grilli et al., 1995), Lipoxigenase (Kalpana et al., 1993), isoesterases (Aung & McDonald, 1995), proteases (Basavarajappa et al., 1991) e reduções em outras como α e β -amilase (Das & Sen-Mandi, 1992b), superóxido dismutase, catalase e glutamato redutase (Bailly et al., 1996). Dentre as alterações observadas em compostos de reservas estão incluídas o declínio no conteúdo de proteínas em sementes de trigo (Dell Aquila, 1983 e Grilli et al., 1995), amendoim (Kalpana & Madhava Rao, 1997), milho (Basavarajappa et al., 1991), feijão (Begnami & Cortelazzo, 1996; Machado-Neto et al., 2001) e soja (Gidrol et al., 1988); alterações em carboidratos de reserva em sementes de milho (Benal-Lugo & Leopold, 1992; Perdomo & Burris, 1998; Kashinath & Subatra, 2003), arroz (Ray et al., 1990) e soja (Locher & Bucheli, 1998), reduções no conteúdo de ácidos graxos em soja (Trawatha et al., 1995; Kashinath & Subatra, 2003), girassol (Halder et al., 1983) e milho (Basavarajappa et al., 1991), além de alterações em padrões de bandas de isoenzimas (Brandão Jr. et al., 1999; Machado Neto et al., 2001).

Reações peroxidativas em lipídios de sementes talvez sejam as maiores causas de deteriorações durante o armazenamento, afetando em especial a viscosidade e a permeabilidade de membranas celulares (Ferguson et al., 1990; McDonald, 1999; Benamar et al., 2003). A degradação das membranas celulares pela ação de radicais livres é uma das mais discutidas e aceitas teorias de deterioração de sementes, talvez por ser considerada o início do processo de desorganização. A base para esta afirmação, vem do conhecimento de que

sementes deterioradas lixiviam mais eletrólitos quando embebidas diretamente em água. Altos níveis de radicais livres extremamente reativos têm sido associados com o processo de envelhecimento do sistema biológico. Radicais livres são átomos que apresentam elétrons com valências livres produzidas durante as reações oxidativas e a interação destes com lipídios da estrutura das membranas é a base do mecanismo de deterioração (Krzyanowski et al., 2001)

Análises citológicas têm revelado também que, em alguns casos, a diminuição da qualidade fisiológica das sementes ao longo do envelhecimento tem se correlacionado com aumentos na porcentagem de aberrações em plântulas (Van Pijlen et al., 1995). Os danos podem muitas vezes ser avaliados tanto pela queda na síntese de DNA (Vázquez-Ramos et al., 1988; Cruz-Garcia et al., 1995) como pelo aumento em sua degradação (Begnami & Cortelazzo, 1996; Coello & Vázquez-Ramos, 1996; Marcos Filho & McDonald, 1998). Há de se destacar, ainda, outras disfunções comumente descritas, como alterações na atividade respiratória (Kalpana & Mandhava Rao, 1995; Cruz-Garcia et al., 1995), degradação de membranas (Perez & Arguello, 1995; Thapliyal & Connor, 1997; Golovian et al., 1997) e acúmulo de produtos tóxicos às células, como metanol, etanol, acetaldeído, acetona e aldeído (Tyagy, 1992; Zhang et al., 1993; Zhang et al., 1995).

Os açúcares livres raramente são os principais carboidratos de armazenamento, mas em certas sementes que são carentes em amido, chegam a representar mais de 11 % do peso seco. Enquanto os conteúdos de açúcares totais raramente ultrapassam 3% em endospermas de milho comum, em endospermas mutantes de sementes de milho doce, os açúcares chegam a representar mais de 46 % dos carboidratos presentes (Tracy, 1994). Sacarose e oligossacarídeos da série rafinose, como rafinose (galactosil sacarose), estaquiose (digalactosil sacarose) e verbascose (trigalactosil sacarose), são comumente encontrados como reservas de embriões e tecidos de armazenamento



em sementes de determinadas espécies. Em sementes de algumas leguminosas, as reservas chegam a ser compostas somente por sacarose, rafinose e estaquiose (Dickinson et al., 1983).

Estudando os efeitos do envelhecimento acelerado sobre membranas celulares e atividades bioquímicas em sementes de milho, Basavarajappa et al. (1991) comprovaram a ocorrência de uma nítida redução em carboidratos de reserva e proteínas. Os autores concluíram também que os açúcares presentes em embriões de sementes de milho devem servir como um importante componente de proteção de membranas, porém podem participar de processos deteriorativos durante o armazenamento. A análise de mudanças em açúcares durante o envelhecimento acelerado de sementes de milho, indicou que a queda no vigor estava associada com alterações no conteúdo de monossacarídeos, mas em especial à redução na concentração de rafinose (oligossacarídeo) (Bernal-Lugo & Leopold, 1992).

2.3 Marcadores isoenzimáticos de deterioração em sementes

O estudo do processo de envelhecimento de sementes através de determinações de alterações em grupos de isoenzimas, tem permitido identificar os pontos iniciais em que ocorrem os danos, bem como de afirmações mais seguras sobre as reais causas de eventos deteriorativos e suas conseqüências. Segundo Copeland & McDonald (1995), dentre as proteínas, as enzimas desempenham um importante papel na evolução da deterioração de sementes e alterações em sua atividade podem ser um excelente indicativo de perda de qualidade.

Diversas mudanças na estrutura macromolecular das enzimas podem contribuir para a sua menor eficiência. Há comprovações de que estas podem sofrer mudanças em sua composição química, por perda ou ganho de certos grupos funcionais, seja por oxidação de grupos sulfidrila ou por conversão de

aminoácidos dentro da estrutura protéica. As enzimas podem também sofrer mudanças de configuração tais como: desdobramento parcial ou desdobramento da estrutura, condensação para formar polímeros ou degradação em subunidades (Copeland & McDonald, 1995).

Para James (1967), os processos relacionados com a deterioração de sementes têm como causa primária alterações na estrutura protéica, causando a inativação enzimática e o surgimento de mutações. A diminuição da atividade respiratória durante os processos deteriorativos sugeridos por Wilson & McDonald (1986) ocorre pela quebra do gradiente protônico necessário para manter o acoplamento respiratório. Segundo estes autores, a membrana da mitocôndria, por ser rica em lipídios insaturados, apresenta mais intensamente peroxidação de lipídios, o que acaba por interferir na taxa respiratória.

A enzima malato desidrogenase (MDH), responsável por catalisar a reação de malato à oxaloacetato, tem importante função no ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e fixação do CO₂ nas plantas (Conn & Stumpf, 1980). A eficiência do uso deste sistema enzimático no estudo de processos deteriorativos em sementes, tem se mostrado bastante variável, entre outros fatores devido aos objetivos propostos e a espécie em questão. Enquanto em sementes de soja Shatters et al. (1994) observaram que a atividade da isoenzima foi a menos afetada pelos tratamentos de envelhecimento, Camargo (1998) relata que a malato desidrogenase foi um interessante marcador molecular para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro, em especial como indicativo da ocorrência de respiração aeróbica.

A respiração aeróbica no entanto, não é o único fator que pode afetar a deterioração de sementes. Zhang et al. (1994) verificaram que em função do metabolismo anaeróbico a produção de compostos voláteis pelas sementes pode ser um importante fator que acelera o processo de deterioração. Segundo os

autores, o acetaldeído teve o maior efeito danoso, independentemente do grau de umidade relativa e da temperatura do ambiente de armazenamento, enquanto o etanol causou deterioração de sementes, somente em condições de umidade relativa alta.

A enzima álcool desidrogenase (ADH) possui reconhecida atuação no metabolismo anaeróbico de plantas, promovendo a redução do acetaldeído a etanol. Os indícios de que a atividade desta isoenzima pode ser correlacionada com a qualidade das sementes não são recentes, uma vez que Throneberry & Smith (1955) já haviam observado, em sementes de milho, correlação positiva entre viabilidade das sementes e atividade da álcool desidrogenase. Mesmo em trabalhos de certificação da pureza genética de híbridos de milho, seu uso tem sido avaliado (Salgado et al., 2001), embora, ao que parece, esta enzima venha a constituir mais uma ferramenta para detecção ao nível bioquímico de eventos deletérios em sementes.

A sorbitol desidrogenase é uma enzima oxiredutora, responsável por catalizar a reação de remoção de termos de hidrogênio do monossacarídeo sorbitol, possibilitando sua degradação e a obtenção de energia para a célula. Em sementes envelhecidas, segundo Murray et al. (1994), a elevação da taxa respiratória durante a deterioração pode afetar a ativação de enzimas como a sorbitol desidrogenase, a qual participa da via glicolítica. Assim, a perda da atividade de desidrogenases em sementes envelhecidas poderia estar relacionada a baixos níveis de produção de ATP e a uma taxa reduzida de ATP e GTP dependente de proteína.

Em sementes de milho, Brandão Jr. (1996) verificou que os sistemas enzimáticos sorbitol desidrogenase (SDH) e glutamato - oxaloacetato transaminase (GOT) revelaram-se os mais promissores marcadores bioquímicos para avaliação da qualidade de sementes em estádios iniciais de deterioração, já que conseguiram detectar alterações no perfil eletroforético de sementes que,

submetidas aos diferentes testes de avaliação fisiológica, mostraram variações mínimas no seu vigor. A glutamato-oxaloacetato transaminase participa da reação específica de transferência de grupo amino de um aminoácido ao ácido α cetoglutarato para formar o ácido glutâmico e produzir o cetoácido e reage em diferentes velocidades com aproximadamente todos os outros aminoácidos protéicos, em uma reação reversível. Essas reações ocorrem sobretudo no citoplasma e o ácido glutâmico, ao qual a membrana mitocondrial é permeável, entra na matriz, na qual pode novamente ser transaminado ou ser desaminado pela glutamato desidrogenase (Conn & Stupf, 1980).

Segundo McDonald (1999), as células possuem um sistema complexo de defesas antioxidantes contra a ação de várias espécies de oxigênios ativados. Sistemas enzimáticos como superóxido dismutase e glutamato peroxidase atuam no sentido de neutralizar diferentes formas de oxigênio ativado. Embora estes sistemas pareçam não atuar em sementes secas, são certamente vitais durante a embebição no início do processo de germinação. A sorbitol desidrogenase tem sido investigada, tendo sido detectada em especial no citoplasma celular em espaços da matriz mitocondrial, catalizando a reação de dismutação do O_2^- em H_2O_2 , para que esta seja posteriormente decomposta em água e oxigênio, reação catalisada pela enzima catalase.

2.4 Armazenamento de sementes

A manutenção da alta qualidade das sementes após a colheita tem início com uma secagem adequada. No caso do milho doce, Guiscem et al. (2001a) citam que as sementes podem ser submetidas à secagem em espiga a temperaturas de 30 ou 40°C, sem perda significativa na sua qualidade fisiológica, concordando com os resultados obtidos por Araújo et al. (2001). De acordo com estes autores, a temperatura de secagem de 50°C foi prejudicial em especial ao vigor das sementes armazenadas na condição ambiente. Com relação

ao ambiente de armazenamento, a melhor qualidade das sementes de milho doce após 12 meses, foi determinada na condição de câmara refrigerada.

A taxa de deterioração das sementes ao longo do período em que permanecem armazenadas sofre influência de vários fatores, muito embora a temperatura e a umidade relativa do ar ambiente sejam comumente citados como os mais importantes (Randhawa et al. 1990; Smith & Berjak, 1995). Para Delouche & Baskin (1973), a umidade relativa do ambiente é ainda mais relevante que a temperatura, dada sua relação direta com o teor de água das sementes, porém a velocidade com que ocorrem os processos bioquímicos é também extremamente dependente da temperatura. [Freitas (1992) observou * claramente a interação entre estes fatores, quando constatou que o ambiente de câmara refrigerada permitiu melhor conservação das sementes de milho em relação ao ambiente não controlado, porém a condição de alta umidade relativa no interior da câmara provocou maior deterioração das sementes acondicionadas em embalagens permeáveis ao vapor de água.] Este resultado pode estar associado em parte ao fato de que altos teores de água provocam uma respiração mais ativa e, como consequência, há uma perda de vigor pela redução das reservas das sementes, ou pela ação de produtos tóxicos elaborados (UFP, 1973).

* { Cabe destacar ainda que é possível, por meio de testes fisiológicos, comprovar efeitos variados do ambiente de armazenamento sobre diferentes lotes de sementes, como verificado por Santos et al. (2002) e Araújo et al. (2001) pelo teste frio em sementes de milho doce.

As oscilações na umidade relativa do ar durante o armazenamento são, no entanto, prejudiciais à manutenção da qualidade das sementes, razão pela qual sementes de milho armazenadas durante 8 meses sob condição alternada de umidade relativa deterioram-se mais intensamente quando comparadas àquelas armazenadas na condição de alta umidade constante.

Diversos trabalhos envolvendo variações na temperatura e umidade relativa do ar durante o armazenamento de sementes de milho demonstram que uma das combinações favoráveis para a conservação destas por períodos curtos entre a colheita e a sementeira seria proporcionada por sementes com 12 a 13% de água, em ambiente sob temperatura de 20°C e umidade relativa do ar abaixo de 60% (Delouche & Baskin, 1973; Maeda et al. 1987). No entanto, de acordo com Fratin (1987), é possível armazenar sementes de milho em armazém convencional por curto período de tempo, desde que as mesmas apresentem elevada qualidade fisiológica no início do armazenamento. Freitas (1992) armazenou sementes de milho com 9% de umidade em embalagem impermeável na condição de ambiente não controlado, verificando, ao final de 20 meses, que as mesmas ainda encontravam-se em condições para comercialização no Estado de Minas Gerais. Por outro lado, Oliveira (1997) concluiu que as sementes de milho armazenadas em condições de armazém convencional em embalagem semi-permeável apresentaram acentuada redução no nível de vigor após 18 meses de armazenamento, enquanto, na condição de câmara refrigerada, a qualidade fisiológica das sementes permaneceu inalterada. Resultado semelhante foi obtido por Carvalho (1992), testando uma unidade móvel de refrigeração para a conservação de sementes de milho, condição na qual foram obtidas melhores respostas em qualidade das sementes em relação à condição de ambiente natural.

A umidade relativa do ambiente de armazenamento sem dúvida exerce grande influência sobre a qualidade fisiológica das sementes, principalmente quando são acondicionadas em embalagens permeáveis ao vapor de água. Assim, o uso de embalagens impermeáveis pode ser de grande interesse, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical úmido (Freitas, 1992, Henning et al., 2001b).

A decisão sobre o tipo de embalagem a ser utilizada não é tão simples como poderia se pensar à primeira vista. As condições climáticas sob as quais a semente vai permanecer armazenada a espera da época da semeadura, a principal modalidade de comercialização das sementes em questão, as características mecânicas da embalagem e a sua disponibilidade no comércio são aspectos importantes a serem considerados (Carvalho & Nakagawa, 1988). O armazenamento de sementes em embalagens impermeáveis e com conteúdos de água inferiores ao empregado para sacos de papel multifoliado tem sido testado com sucesso para sementes de cereais (Melo et al., 2001; Henning et al., 2001a; Henning et al., 2001b).

Especialmente no caso de sementes de milho doce, além de todos cuidados normalmente exigidos durante a colheita, secagem e beneficiamento, Parentoni et al. (1990) destacam que devido às suas características, o armazenamento deve necessariamente ser realizado em condições ideais. Pessoa (1996) recomenda que as sementes de milho doce sejam secadas até 13% para o armazenamento em embalagem permeável e 8% para embalagem hermética. Interessante destacar que o armazenamento e a comercialização em embalagens herméticas de baixo peso unitário são muito comuns para sementes de milho doce, muitas vezes destinada a pequenos produtores que tratam seu cultivo num sistema de horta.

Produzir sementes de olerícolas (como é considerado o milho doce) com alta qualidade requer alta precisão no uso das técnicas agrícolas. Estas sementes normalmente possuem alto valor agregado e os cuidados se estendem desde a escolha do local para campo de produção até o armazenamento e comercialização (Bee & Barros, 1999). Para sementes ortodoxas como o milho, que podem ser armazenadas com um baixo conteúdo de água, existe quase que um consenso de que a queda no vigor e a perda da viabilidade durante o armazenamento em grande parte são determinadas pela umidade e pela

temperatura ambiente. É também aceito que a pressão parcial de oxigênio constitui um fator que pode afetar a conservação das sementes, muito embora com um grau de importância relativamente menor (Ellis & Roberts, 1980). O conteúdo de água e a temperatura de armazenamento podem ser facilmente manipulados pelo processo de secagem e o uso de ambiente de armazenamento com umidade e temperatura controladas por equipamentos. O conteúdo de oxigênio disponível, por sua vez, pode ser limitado pelo empacotamento a vácuo em embalagens impermeáveis seladas ou pela injeção de um gás livre de oxigênio.

Com objetivo de verificar o efeito de atmosferas controladas na qualidade de sementes armazenadas de girassol e gergelim, foram testadas substâncias como dióxido de carbono, nitrogênio, hélio, argônio e vácuo parcial de oxigênio (Bass et al., 1963). Foi verificada significativa vantagem no uso dessas outras atmosferas em substituição ao ar natural para o armazenamento de sementes destas espécies. Ficou também comprovada a grande influência da temperatura ambiente e do grau de umidade das sementes sobre a taxa de deterioração.

Parece não haver ainda, na literatura, uma definição clara da pressão de vácuo ou disponibilidade ideal de oxigênio que deve permanecer na embalagem para garantir a sobrevivência das sementes. As pressões de vácuo utilizadas nos experimentos têm variado desde valores relativamente baixos, como 0,9 kPa (New, 1988), até pressões de 87 kPa (Rouziere, 1986), quase 10 vezes a pressão máxima recomendada por Edwin (1961), equivalente 10,13 kPa.

Os resultados encontrados por Bee & Barros (1999) demonstraram ser bastante viável o uso do vácuo para o armazenamento de sementes de abóbora com 6 % de umidade, condição em que a qualidade fisiológica e o grau de umidade das sementes permaneceram inalterados por um período de oito meses. O acondicionamento a vácuo tem sido testado também para sementes de cereais

como feijão (Aguirre & Peske, 1991) e trigo (Miranda, 1997), muito embora a eficiência deste tipo de armazenamento tenha variado muito de uma espécie para outra. New (1988) comparou a qualidade fisiológica de sementes de soja e milho embaladas a vácuo e na presença de oxigênio em embalagens impermeáveis. As sementes armazenadas a vácuo apresentaram ganhos pouco significativos, o que, segundo o autor, torna a técnica não recomendável para uso comercial em larga escala. Por outro lado, experimentos realizados no Senegal para testar o armazenamento a vácuo de sementes *Arachis hypogaeae* L. e outras espécies, em volumes de até 300 kg, indicaram que o vácuo ou a atmosfera saturada com nitrogênio podem ser utilizados em substituição ao armazenamento refrigerado, com benefícios inclusive sobre o controle de insetos (O'Dowd & Dobie, 1983). Sementes das espécies *Adina cordifolia* L. e *Hymenodictyon excelsum* L. armazenadas na condição de vácuo, apresentaram germinação média de 76 e 98% respectivamente após 24 meses, enquanto o armazenamento convencional provocou uma drástica redução na viabilidade (Rajput, 1996). Bons resultados foram verificados também em sementes de amendoim embaladas com alta pressão de vácuo (87 kPa) ou utilizando nitrogênio como gás inerte, não tendo sido detectadas alterações na germinação e em aspectos físico-químicos após 18 meses de armazenamento (Rouzière, 1986).

De acordo com Tao (1992), a conservação a vácuo de sementes em bancos de germoplasmas ainda não é recomendada para muitas espécies, visto que as conclusões de várias pesquisas têm como base resultados bastante questionáveis. Ao que parece, técnicas inadequadas de conservação, especialmente em relação ao grau de umidade das sementes, têm sido responsáveis por resultados insatisfatórios.

A qualidade sanitária das sementes de milho doce também é de fundamental importância, razão pela qual as empresas que produzem estas sementes têm normalmente realizado, assim como para o milho comum, o

tratamento das sementes com misturas de fungicidas, visando assegurar o estabelecimento de estandes satisfatórios e o desenvolvimento normal de plântulas (Halfon-Meiri & Solel, 1990).

Wilson Jr. Et al. (1993), avaliando 30 combinações de fungicidas para sementes de milho doce, verificaram que um tratamento químico efetivo deverá conter um fungicida protetor de amplo espectro, como thiran, captan-thiran ou metalaxil, um fungicida sistêmico com atividade contra *Penicillium* e *Fusarium*, como imazalil, ou um fungicida bezamidazole. Uma alternativa para a introdução de fungicidas protetores nas sementes é o uso de solventes orgânicos, os quais devido a sua propriedade apolar, penetram facilmente em seus tecidos mais externos. Embora esta prática seja relativamente comum para sementes de soja, algodão e amendoim, em sementes de milho doce os resultados são ainda contraditórios. Hung et al. (1992) por exemplo, constataram alta toxidez nas sementes de milho doce, provocada por vários outros tipos de solventes.


Fungos de diversos gêneros, como *Fusarium*, *Penicillium* e *Rhizopus*, podem ser encontrados em crescimento ou esporulando em espigas antes da colheita das sementes (Marshall, 1987), em adição à contaminação superficial, diferentes fungos colonizam o interior das sementes, como *Fusarium moniliforme* J. Sheld e *Penicillium oxalicum* Currie e Thom (Wilson & Mohan, 1991). Associados, estes e outros fungos podem acelerar o processo de deterioração das sementes durante o armazenamento.

Existem duas categorias de fungos que podem estar associadas às sementes de milho: os fungos de campo e os fungos de armazenamento. Os fungos de campo, como *Fusarium moniliforme*, *Cephalosporium acremonium* e *Colletotrichum graminicola*, têm potencial para invadir as sementes na planta mãe, requerendo, para seu desenvolvimento, que as sementes estejam com teor de água acima de 20% (Pinto, 1996). O tempo de sobrevivência desses fungos nas sementes, no entanto, está diretamente relacionado com as condições de

ambiente no armazém (Lal & Kapoor, 1979; Berjak, 1987; Meronuck, 1987). Já os fungos de armazenamento, como as diferentes espécies de *Aspegillus* e *Penicillium*, podem infestar as sementes na pré-colheita, principalmente se as condições climáticas estiverem favoráveis ao seu desenvolvimento, como também tolerar um baixo teor de água das sementes e sobreviver por longo período de armazenamento (Cristensen & Sauer, 1982; Pinto, 1996).

Neste sentido, diante dos diversos trabalhos realizados visando estudar a associação de fungos com sementes, é possível verificar citações de que durante o armazenamento, há uma elevação na incidência de fungos de armazenamento (Bewley & Black, 1994; Oliveira, 1997, Jorge, 2001; Tanaka et al., 2003), em muitos casos acompanhada de redução no inóculo de fungos de campo (Jorge, 2001; Kashinath & Subatra, 2003). Pouco se conhece, no entanto, sobre o comportamento dos fungos fitopatogênicos (de campo) nas sementes armazenadas, principalmente se conservadas em diferentes condições de ambiente.

[Tanaka et al. (2003) enfatizam que as mesmas condições de armazenamento que permitem a manutenção da viabilidade das sementes, podem também favorecer a sobrevivência de importantes patógenos para a cultura do milho.] A esse respeito os autores comprovaram que na condição de câmara refrigerada, a viabilidade do fungo *Fusarium moniliforme* foi menos afetada do que na condição ambiente natural, na qual a sobrevivência do fungo foi reduzida gradativamente ao longo dos 14 meses de armazenamento. Por outro lado, embora o armazenamento em ambiente não controlado tenha provocado a redução no inóculo de *Fusarium moniliforme* e outros fungos, a viabilidade das sementes foi afetada. Oliveira (1997) também encontrou diferenças significativas quanto ao percentual de contaminação por fungos de acordo com o ambiente de armazenamento. Enquanto na condição de ambiente natural foi notada uma queda gradual na porcentagem de infestação por



Fusarium moniliforme, em câmara refrigerada praticamente não houve alteração. Já para *Penicillium* e *Aspergillus* ocorreu aumento significativo na porcentagem de sementes contaminadas nos 18 meses de armazenamento.

Tendo em vista que a preservação dos atributos da qualidade das sementes após a colheita até a sua comercialização e plantio é de fundamental importância, tanto para a empresa de sementes como para o produtor, o qual espera obter um estande uniforme e com plântulas saudáveis e vigorosas, o armazenamento adequado das sementes assume relevante papel, em especial para sementes com baixa armazenabilidade. No caso específico das sementes de milho doce, há uma grande carência de estudos sobre os fatores que afetam sua conservação, talvez em função da recente expansão no consumo deste material pelo mercado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras - MG, utilizando sementes do híbrido triplo DO-04 (contendo gene shrunken, que confere o caráter super doce), classificadas em peneira 20 de crivo circular. A colheita foi realizada manualmente em espigas, assim que as sementes atingiram um grau de umidade próximo a 30 %. As sementes foram então secadas em espigas, em um secador estacionário de camada fixa, à temperatura de 40°C até a umidade de 12%, e expurgadas com fosfina.

3.1 Caracterização dos tratamentos

Ao longo do armazenamento, foram estudados os efeitos do acondicionamento das sementes em embalagens permeáveis (sementes tratadas e não tratadas com fungicida e inseticidas) e impermeáveis (com e sem vácuo) em duas condições (ambiente natural ou armazém convencional e câmara refrigerada e seca).

As sementes acondicionadas em embalagens permeáveis (papel tipo kraft trifoliado) foram embaladas com grau de umidade de 11%. No caso do armazenamento em embalagens impermeáveis (sacos de polietileno), foram estudados os efeitos do acondicionamento nas umidades de 8 e 11 %, em presença e ausência de vácuo (0,1 atm). Nos tratamentos correspondentes às sementes acondicionadas em embalagens impermeáveis com umidades de 8%, uma nova secagem foi feita antes do armazenamento em um secador estacionário de camada fixa a uma temperatura de 40°C. O empacotamento a vácuo das sementes nas embalagens impermeáveis foi realizado com o auxílio de uma bomba de vácuo ajustada para fornecer a pressão de 0,1 atm.

Uma parte das sementes armazenadas em sacos de papel foi submetida ao tratamento químico com fungicida e inseticidas. Para o tratamento das sementes foi utilizado o fungicida Captan 750 TS (1,6 g/Kg) e os inseticidas K-obiol 2P CE (0.05 Kg/100 Kg) e Actellic 500 CE na dosagem de 8 ml/kg de sementes. Após embaladas, as sementes foram acondicionadas em dois ambientes: câmara refrigerada e seca (10°C de temperatura e umidade relativa de 50%) e ambiente natural (armazém convencional). Na tabela 1 é apresentado um resumo dos tratamentos estudados.

A qualidade das sementes foi avaliada inicialmente, antes de serem embaladas e durante o período de armazenamento aos 6, 12 e 18 meses, perfazendo, assim, quatro épocas de avaliação. As unidades experimentais corresponderam a quatro pacotes de 350 gramas de sementes por tratamento para a cada época de avaliação.

QUADRO 1. Descrição dos tratamentos estudados, relativa aos diferentes ambientes, tipos de embalagens e tempos de armazenamento. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Tratamento
Câmara refrigerada - embalagem de papel - tratada
Câmara refrigerada - embalagem de papel - não tratada
Câmara refrigerada - embalagem de polietileno - 8% de umidade
Câmara refrigerada - embalagem de polietileno - 11% de umidade
Câmara refrigerada - embalagem a vácuo - 8% de umidade
Câmara refrigerada - embalagem a vácuo - 11% de umidade
Ambiente natural - embalagem de papel - tratada
Ambiente natural - embalagem de papel - não tratada
Ambiente natural - embalagem de polietileno - 8% de umidade
Ambiente natural - embalagem de polietileno - 11% de umidade
Ambiente natural - embalagem a vácuo - 8% de umidade
Ambiente natural - embalagem a vácuo - 11% de umidade

3.1.1 Análise das sementes

Grau de umidade (% base úmida)

Foi determinado, antes das sementes serem embaladas e ao longo de cada período de armazenamento, retirando-se 2 amostras em cada uma das 4 repetições de cada tratamento. O teor de água foi determinado utilizando uma estufa elétrica sem ventilação, ajustada à temperatura de $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem, em base úmida.

Germinação, 1ª contagem e índice de velocidade de germinação

Foram adotados os critérios prescritos nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), exceto pelo número de sementes avaliadas, que foi de 200, divididas em 4 amostras de 50, para cada uma das 4 repetições. Utilizou-se o rolo de papel (3 folhas) umedecido com água destilada, numa proporção de peso de 2,5: 1 (água:papel) e temperatura do germinador de 25°C , efetuando-se as contagens no 4º dia (primeira contagem) e no 7º dia após a instalação do teste. Foi avaliada a porcentagem de sementes germinadas, representada pela porcentagem de plântulas normais obtidas na 1ª e na última contagem, determinando-se também o índice de velocidade de germinação (IVG), computando diariamente o número de sementes germinadas (protrusão radicular igual ou maior que 1 cm) (Maguirre, 1962).

Índice de velocidade de emergência

A semeadura foi realizada em badeiras plásticas contendo uma mistura de areia + terra na proporção de 2:1, utilizando-se 4 repetições de 50 sementes por parcela. O teste foi conduzido em uma câmara de germinação ajustada para fornecer a temperatura de 25°C , em regime alternado de luz e escuro (12 horas).

A partir do início da emergência, foram realizadas avaliações diárias, computando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização do estande. O cálculo do índice de velocidade de germinação foi efetuado usando-se a fórmula de Maguirre (1962).

Teste de frio

Foi conduzido em bandejas plásticas, contendo uma mistura de 2/3 de areia e 1/3 de terra retirada da camada arável em área cultivada com milho, ajustando-se a umidade do substrato para 60% da capacidade de campo (ISTA, 1995). Foram semeadas 50 sementes por bandeja, utilizando-se 4 repetições para cada unidade experimental. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em câmara refrigerada à temperatura de 10°C por 7 dias. Ao término desse período, as bandejas foram transferidas para uma câmara de crescimento vegetal, na temperatura de 25°C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas). Passados 7 dias, foi computada a porcentagem de plântulas emergidas.

Teste de sanidade

O método utilizado foi o do papel de filtro modificado com congelamento, conforme descrito por Machado (1988). Foram analisadas 200 sementes por parcela, distribuídas em 8 repetições de 25 sementes por placa de petri de 15 cm de diâmetro sobre 3 folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada e autoclavada. Após 25 horas de incubação, as placas contendo as sementes foram transferidas para um freezer à temperatura de -20°C, onde permaneceram por 24 horas. Em seguida, as placas retornaram para a sala de incubação à temperatura de 20°C, sob regime alternado de 12 horas de luz branca e 12 horas no escuro, durante 7 dias. Após este período, com o auxílio de um microscópio estereoscópio foi realizada a identificação e quantificação dos fungos presentes nas sementes.

Análises eletroforéticas

Na análise isoenzimática, a extração foi efetuada adicionando-se a 100 mg do pó das sementes, 400µl do tampão de extração (0,2M Tris, 0,1% β mercaptoetanol, 0,4% PVP, 0,4% PEG, 1 mM EDTA). O homogeneizado foi incubado em gelo por 24 horas e centrifugado a 14.000 xg a 4°C por 30 minutos. Posteriormente, 20µL do sobrenadante de cada tratamento foram aplicados nos géis de poliacrilamida 7,5% (gel de separação) e 4,5% (gel de concentração). A migração foi efetuada a uma corrente de 12 mA no gel concentrador e 24 mA no gel separador. Após a eletroforese, os géis foram corados para detecção da atividade das enzimas malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH) e glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), de acordo com metodologia descrita por Alfenas et al. (1991).

3.1.2 Delineamento estatístico

Foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso com 4 repetições, em esquema fatorial 2 x 4 x 6, correspondente a 2 ambientes de armazenamento (câmara refrigerada e armazém convencional) x 4 épocas de avaliação (0, 6, 12 e 18 meses) x 6 métodos de acondicionamento (sementes não tratadas em embalagem de papel; sementes tratadas em embalagem de papel; embalagem plástica com 8% de umidade; embalagem plástica com 11% de umidade; condição de vácuo a 8% de umidade; condição de vácuo a 11% de umidade). Os dados foram submetidos a análise de variância, aplicando-se o teste de médias de Scott & Knott no nível de 5% de significância para os métodos de acondicionamento, teste de F no nível de 1% de significância para ambientes de armazenamento e análise de regressão para épocas de armazenamento.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos de diferentes ambientes de armazenamento, métodos de acondicionamento ou embalagem e tempo de armazenamento foram altamente significativos para todos os fatores isolados, bem como para a interação tripla (Tabela 1A). Por se tratar de sementes com baixa capacidade de tolerar o armazenamento (Azanza et al., 1996) e, por conseguinte, susceptíveis às variações das condições em que são armazenadas, esses resultados eram esperados. Tal propriedade tem sido ainda objeto de vários estudos, todavia, características texturais do endosperma, a fragilidade do pericarpo após a secagem, a alta susceptibilidade a fungos e a baixa concentração de substâncias de reservas são citadas entre as principais causas (Styer & Cantliffe, 1984; Silva, 1994; Guissem et al., 2001).

Usado com frequência como teste de vigor, os resultados da primeira contagem do teste de germinação aos 4 dias, apresentados na Tabela 1, indicam a existência de variações na percentagem de germinação segundo o tipo de embalagem e o ambiente de armazenamento. Aos 12 meses foi verificado que, à exceção das sementes em sacos de polietileno com 8% de umidade, para os demais tratamentos, o armazenamento em câmara refrigerada resultou em maior percentagem de germinação na primeira contagem. Todavia, aos 18 meses a condição de câmara fria e seca foi significativamente mais eficiente apenas para as sementes embaladas em saco papel.

Que em condição de câmara refrigerada a baixa temperatura favorece a conservação das sementes não há dúvidas. Oliveira (1997) concluiu que as sementes de milho nas condições de armazém convencional em embalagem semi-permeável apresentaram acentuada redução no nível de vigor após 18 meses de armazenamento, enquanto em câmara refrigerada a qualidade fisiológica das sementes permaneceu inalterada.

Na condição de câmara refrigerada, os tratamentos de armazenamento em embalagem de papel apresentaram-se entre os melhores com relação à porcentagem de germinação na primeira contagem em todas as épocas de avaliação (Figura 1), embora aos 18 meses não tenha sido observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Já na condição de ambiente natural, os resultados foram muito diferentes. Aos 18 meses de armazenamento, foi verificado que as sementes tratadas e as não tratadas acondicionadas em embalagem de papel sofreram as maiores quedas na porcentagem de germinação na primeira contagem. A reduzida taxa de infecção por fungos aos 18 meses, apresentada pelas sementes tratadas (Tabela 6) assegura que o baixo desempenho germinativo das sementes armazenadas em embalagem de papel tenha ocorrido não pela ação de fungos, mas sim pela baixa qualidade fisiológica das sementes. Cabe destacar que, em muitos casos, é nesta condição de ambiente que as sementes de milho permanecem armazenadas a espera da comercialização e plantio. No caso do milho doce em especial, a baixa qualidade das sementes não tem sido atribuída a um fator específico, mas a uma série de deficiências ou características desta espécie (Azanza et al., 1996; Bee & Barros, 1999; Guissem et al., 2001a).

Na avaliação da contagem final do teste de germinação foi determinado que aos 12 meses, exceto para as sementes embaladas a vácuo com 11% de umidade, o armazenamento em câmara refrigerada foi significativamente eficiente na preservação da qualidade fisiológicas das sementes em relação ao ambiente natural (Tabela 2).

TABELA 1. Porcentagem de germinação de sementes de milho doce na primeira contagem do teste de germinação aos quatro dias, em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Embalagem	Tempo de armazenamento/Condição de Armazenamento							
	Antes do armazenamento		6 meses		12 meses		18 meses	
	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural
Papel tratadas	64,00 aA	68,50 aA	65,00 aA	60,00 aA	41,50 Aa	25,00 bA	28,00 aA	15,50 bB
Papel não tratadas	59,00 bA	69,50 aA	60,50 aA	51,50 bB	37,00 aA	21,50 bB	26,00 aA	16,00 bB
Poliétileno (8%)	66,50 aA	70,00 aA	45,50 aC	51,50 aB	29,50 aB	29,00 aA	22,50 aA	18,00 aB
Poliétileno (11%)	64,50 aA	68,00 aA	50,00 aB	56,00 aA	35,50 aA	18,00 bB	23,50 aA	18,00 aB
Vácuo (8%)	65,00 aA	58,50 bB	51,50 aB	50,00 aB	38,50 aA	28,00 bA	25,00 aA	25,00 aA
Vácuo (11%)	67,50 aA	66,00 aA	55,00 aB	53,00 aB	38,50 aA	20,00 bB	24,00 aA	21,00 aA

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott para embalagem e F para condição de armazenamento ($P < 0,05$).

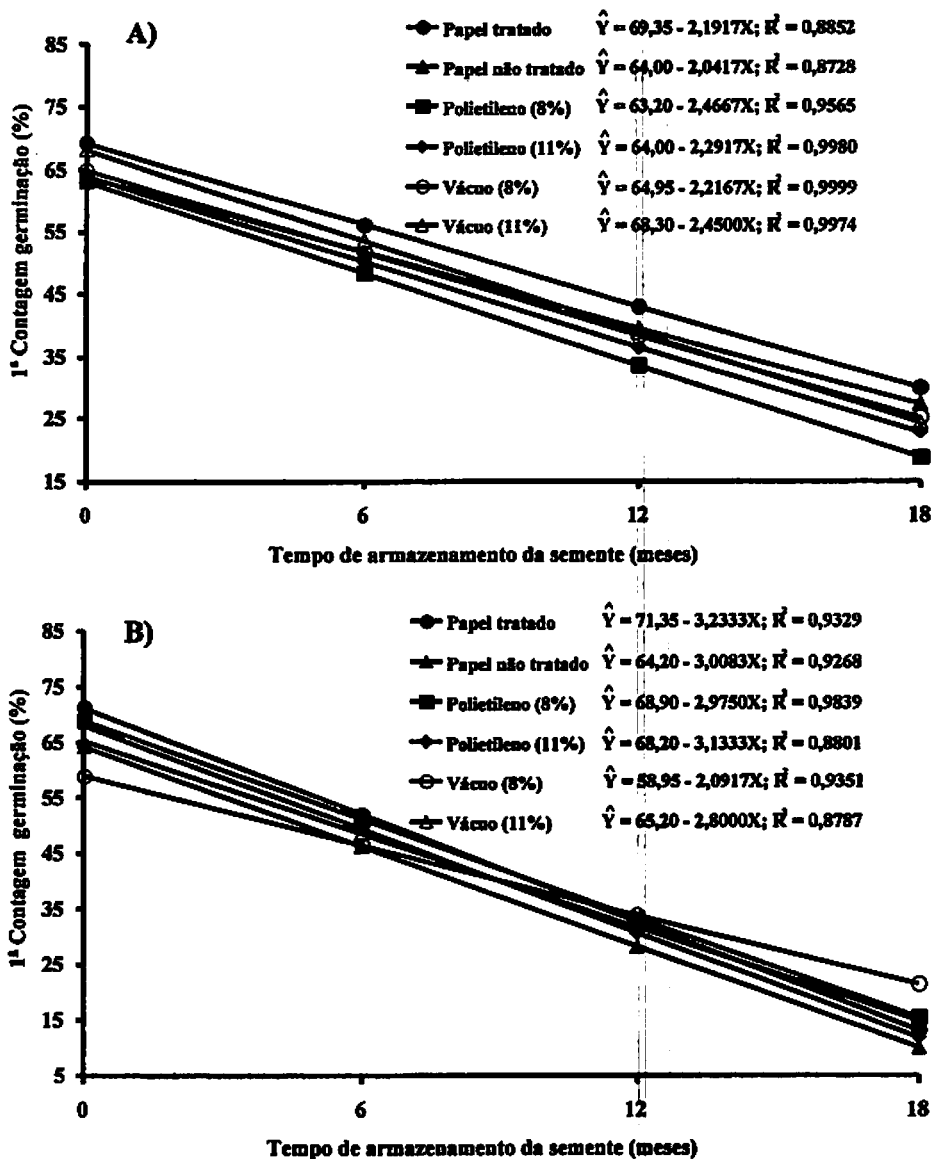


FIGURA 1. Porcentagem de germinação de sementes de milho doce na primeira contagem do teste de germinação, em função da condição de armazenamento (A - Câmara refrigerada; B - Ambiente natural) e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Desde que sejam ajustadas condições ideais de temperatura e umidade relativa do ar, o armazenamento em ambiente de câmara refrigerada é mais eficiente na conservação da qualidade das sementes em relação ao ambiente natural, em especial por curtos períodos de tempo. Foi o que demonstraram os resultados obtidos por Jorge (2001), o qual não verificou queda na porcentagem de germinação e no índice de velocidade de germinação de sementes de milho armazenadas por um período de 7 meses. Resultado semelhante foi observado por Carvalho (1992), testando uma unidade móvel de refrigeração para a conservação de sementes de milho, condição na qual foram obtidas melhores respostas em qualidade das sementes em relação à condição de ambiente natural.

Aos 18 meses de armazenamento em condição de câmara refrigerada, as sementes tratadas acondicionadas em embalagem de papel apresentaram a maior porcentagem média de germinação, não se diferenciando no entanto, das não tratadas em embalagem de papel e das que permaneceram em embalagem plástica com 8 e 11% de umidade. O destaque foi para o baixo desempenho germinativo apresentado pelas sementes armazenadas a vácuo com 11% de umidade (Tabela 2). Embora aos 18 meses as sementes armazenadas a vácuo com 8 e 11% de umidade em câmara refrigerada não tenham apresentado as maiores porcentagens de infecção por fungos em relação às sementes não tratadas na mesma condição de ambiente (Tabela 6), é provável que a pior qualidade fisiológica das sementes mostradas nestes dois tratamentos tenha proporcionado condições mais favoráveis à infecção por fungos durante a condução do teste germinação, contribuindo para uma menor porcentagem de sementes germinadas na contagem final. Para Tanaka et al. (2003), é importante observar que apesar de a condição de baixa temperatura ser favorável à conservação da qualidade fisiológica das sementes, como comprovado neste trabalho por meio da porcentagem de germinação (Tabela 2), nesta condição a viabilidade de alguns tipos de fungos também é favorecida. Tal afirmação, foi

comprovada neste ensaio, desde que se observou aos 18 meses, significativo aumento na porcentagem de infecção pelo fungo *Fusarium* nas sementes não tratadas e armazenadas em câmara refrigerada (Tabela 6).

Discordando dos resultados apresentados na Tabela 2, testando o armazenamento a vácuo de sementes de milho com conteúdos de água de 9% e 11% por 18 meses em ambiente a 31°C e 55% de umidade relativa, New (1988) não observou diferença significativa na porcentagem de germinação entre as sementes armazenadas a vácuo e as mantidas em embalagens impermeáveis seladas. A necessidade do armazenamento de sementes com baixo conteúdo de água relatada por Ellis & Roberts (1980) é também defendida por New (1988), o qual no entanto acrescenta que existem poucos estudos sobre armazenamento a vácuo de sementes em condições de baixa temperatura.

Em contrapartida, foi verificado que as embalagens à vácuo se mostraram eficientes no caso do armazenamento em ambiente não controlado (ambiente natural), independentemente do grau de umidade das sementes. Enquanto na condição de vácuo a 8 e 11% de umidade aos 18 meses as porcentagens de germinações foram de 66,5 e 64,5% respectivamente, o melhor desempenho entre as mantidas em embalagem de papel foi de 47,5%, observado para as sementes tratadas (Tabela 2).

Em relação ao índice de velocidade de germinação (IVG), foi verificado que apenas a partir dos 12 meses os tratamentos de armazenamento em câmara refrigerada apresentaram índices superiores aos do armazenamento em ambiente natural, com destaque para as sementes tratadas em embalagem de papel (Tabela 3).

TABELA 2. Porcentagem de germinação de sementes de milho doce no teste de germinação, em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Embalagem	Tempo de armazenamento/Condição de Armazenamento							
	Antes do armazenamento		6 meses de armazenamento		12 meses de armazenamento		18 meses de armazenamento	
	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural
Papel tratadas	77,50 bA	84,00 aA	79,50 aA	81,00 aA	79,00 aA	60,50 bB	78,50 aA	47,50 bC
Papel não tratadas	80,50 aA	79,50 aA	78,00 aA	76,00 aA	77,00 aA	56,50 bB	74,50 aA	45,00 bC
Polietileno (8%)	78,50 aA	79,00 aA	74,00 aB	67,50 bB	72,00 aA	66,00 bA	75,50 aA	67,00 bA
Polietileno (11%)	79,00 aA	80,50 aA	76,00 aA	76,50 aA	73,50 aA	60,50 bB	74,00 aA	56,00 bB
Vácuo (8%)	79,50 aA	81,00 aA	70,50 aB	63,50 bB	77,50 aA	67,50 bA	71,00 aB	66,50 aA
Vácuo (11%)	80,00 aA	78,50 aA	76,00 aA	76,50 aA	65,00 Ab	64,00 aA	67,00 aB	64,50 aA

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott para embalagem e F para condição de armazenamento ($P < 0,05$).

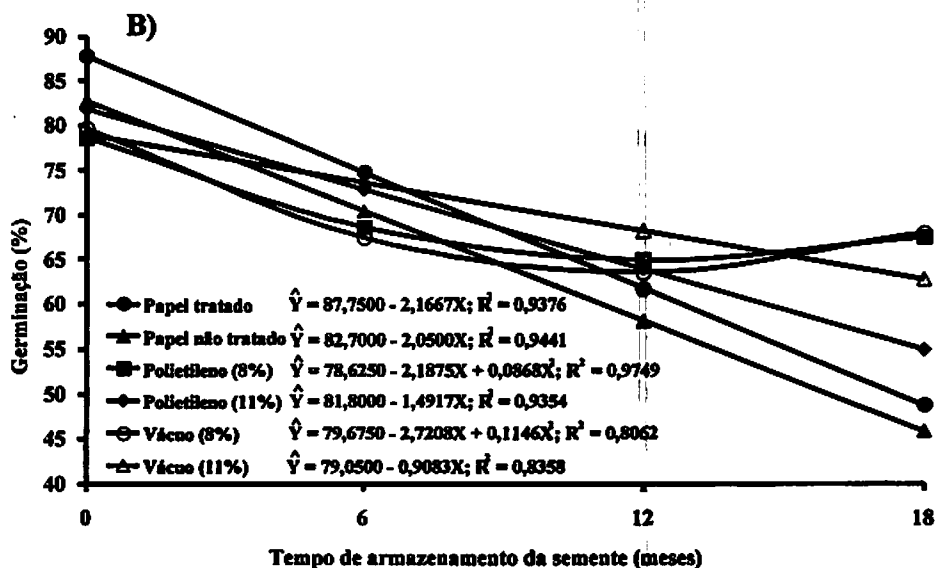
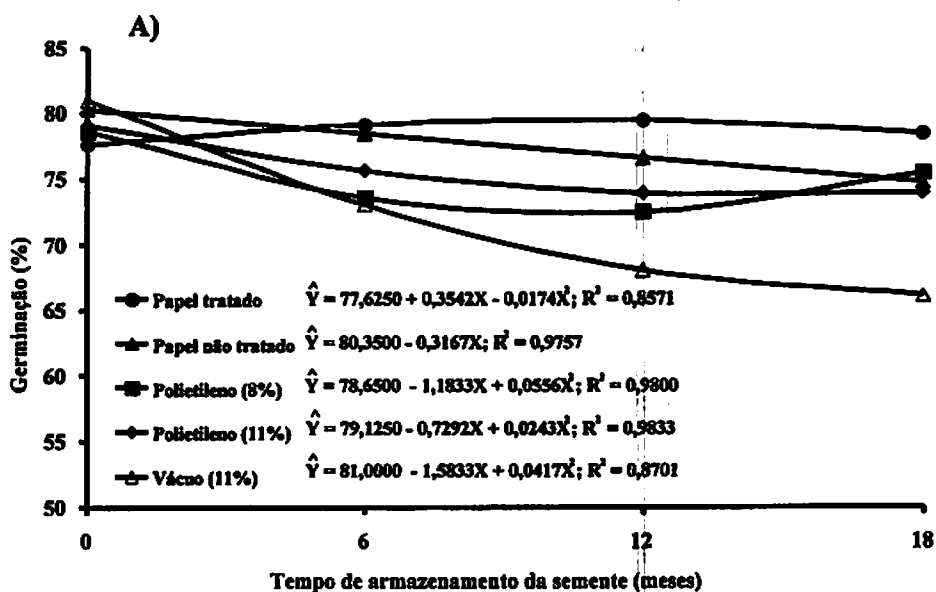


FIGURA 2. Porcentagem de germinação de sementes de milho doce no teste de germinação, em função da condição de armazenamento (A - Câmara refrigerada; B - Ambiente natural) e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

É possível notar na Tabela 3, que no caso do armazenamento em câmara refrigerada, o bom desempenho germinativo das sementes tratadas e acondicionadas em embalagem de papel se manteve mesmo aos 18 meses, concordando com os resultados verificados para milho comum por Oliveira (1997). Em contrapartida, na condição de ambiente natural, a partir dos 12 meses houve significativa redução na qualidade das sementes armazenadas neste tipo de embalagem.

Quanto ao índice de velocidade de emergência (IVE), é possível verificar, pela Tabela 4, que para a condição de câmara refrigerada não houve diferença entre os tratamentos em nenhuma das épocas de avaliação, exceto pelo pior desempenho, especialmente aos 12 meses, apresentado pelas sementes armazenadas a vácuo com 11% de umidade. No caso da condição de ambiente natural, talvez em função da maior velocidade de deterioração das sementes, o teste de vigor foi sensível a ponto de detectar quedas significativas já aos 6 meses nos índices apresentados pelas sementes em embalagem de polietileno, independentemente do grau de umidade.

Em especial para o armazenamento a vácuo, o teor de água ideal das sementes ainda não está definido. Enquanto para Pessoa (1996) a porcentagem máxima não deve exceder 8% para sementes de milho, Bee & Barros (1999) concluíram que sementes de abóbora podem seguramente ser armazenadas em condições de vácuo com 13% de umidade.

TABELA 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Embalagem	Tempo de armazenamento/Condição de Armazenamento							
	Antes do armazenamento		6 meses		12 meses		18 meses	
	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural
Papel Tratadas	10,99 aA	11,93 aA	9,49 aA	9,06 aA	9,04 aA	6,49 bB	8,71 aA	5,23 bC
Papel não tratadas	11,10 aA	11,12 aB	9,28 aA	8,99 aA	8,55 aA	5,98 bB	7,63 aB	4,79 bC
Polietileno (8%)	10,91 aA	11,40 aB	7,87 aC	7,85 aB	7,87 aB	7,23 aA	7,61 aB	7,55 aA
Polietileno (11%)	11,04 aA	11,12 aB	8,57 aB	8,96 aA	7,99 aB	6,50 bB	8,56 aA	5,89 bB
Vácuo (8%)	11,04 aA	11,33 aB	7,96 aC	7,63 aB	8,48 aA	7,38 bA	7,95 aB	7,92 aA
Vácuo (11%)	11,51 aA	11,26 aB	8,72 aB	8,79 aA	7,25 aC	7,20 aA	7,15 aB	7,15 aA

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott para embalagem e F para condição de armazenamento ($P < 0,05$).

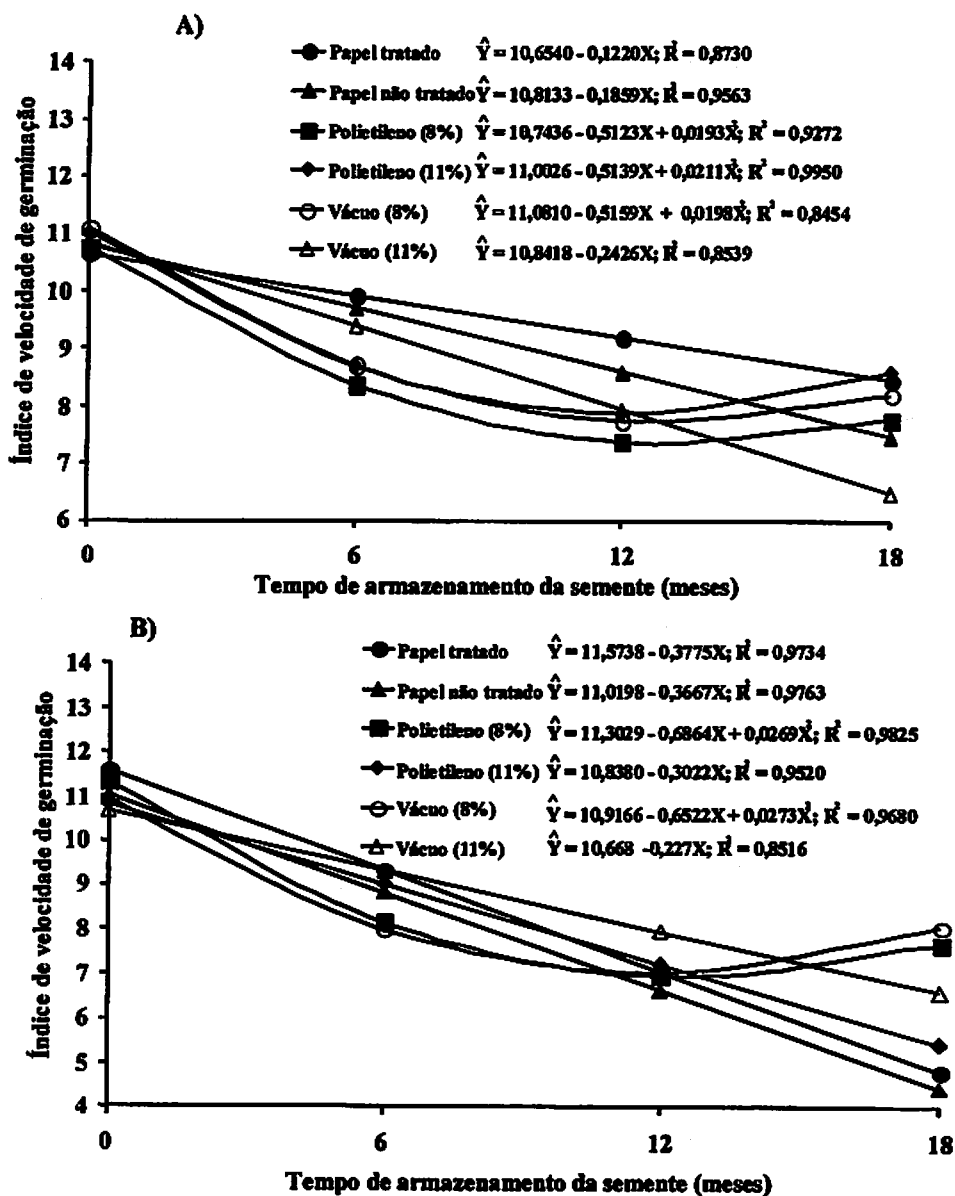


FIGURA 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento (A - Câmara refrigerada; B - Ambiente natural) e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Na condição de ambiente natural, destaca-se a superioridade do armazenamento em embalagem a vácuo na umidade de 8%, em especial aos 18 meses (5,77), quando comparado ao índice de velocidade de emergência para as sementes não tratadas, acondicionadas em embalagem de papel (2,25). Verifica-se que nesta condição de ambiente, as sementes acondicionadas a vácuo na umidade de 8% manteve-se com os maiores índices de velocidade de emergência praticamente durante todo o período de armazenamento (Figura 4).

Apesar de ainda contraditórios, experimentos de acondicionamento de sementes a vácuo têm indicado que a técnica pode ampliar o período de armazenamento, ficando claro, no entanto, a necessidade de uma melhor definição das condições mais adequadas para cada situação e espécie. A técnica tem sido testada também para sementes de outras espécies, como soja (New, 1988), feijão (Aguirre & Peske, 1991), trigo (Miranda, 1997) e abóbora (Bee & Barros, 1999), muito embora a metodologia usada e a eficiência obtida, tenham variado muito de uma espécie para outra.

Confirmando os resultados encontrados nos testes de germinação, IVG e IVE, foi observado também no teste frio, um efeito significativo para o local de armazenamento, destacando-se a superioridade da condição de câmara refrigerada, sobretudo a partir dos 12 meses (Tabela 5). É possível notar que nesta condição, a germinação das sementes tratadas e acondicionadas em embalagem de papel estiveram entre as mais elevadas a partir dos 6 meses, até o final do armazenamento, provavelmente confirmando o efeito protetor do tratamento das sementes relatado por Oliveira (1997) desde o início do armazenamento até os 18 meses.

TABELA 4. Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Embalagem	Tempo de armazenamento/Condição de Armazenamento									
	Antes do armazenamento			6 meses			12 meses			18 meses
	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural
Papel tratadas	9,52 aA	9,30 aA	9,50 aA	8,88 bA	9,48 aA	6,04 bC	8,29 aA	2,78 bD		
Papel não tratadas	9,45 aA	9,52 aA	9,41 aA	8,99 aA	9,14 aA	5,44 bC	7,92 aA	2,25 bD		
Polietileno (8%)	9,32 aA	9,57 aA	9,31 aA	8,23 bB	9,28 aA	8,29 bA	8,13 aA	4,69 bB		
Polietileno (11%)	9,45 aA	9,08 aA	9,12 aA	8,06 bB	8,93 aA	5,57 bC	8,03 aA	3,62 bC		
Vácuo (8%)	9,60 aA	9,34 aA	9,48 aA	8,71 bA	9,20 aA	8,70 aA	8,22 aA	5,77 bA		
Vácuo (11%)	9,34 aA	9,32 aA	9,07 aA	8,64 aA	8,90 aA	6,82 bB	7,23 aB	3,44 bC		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott para embalagem e F para condição de armazenamento ($P < 0,05$).

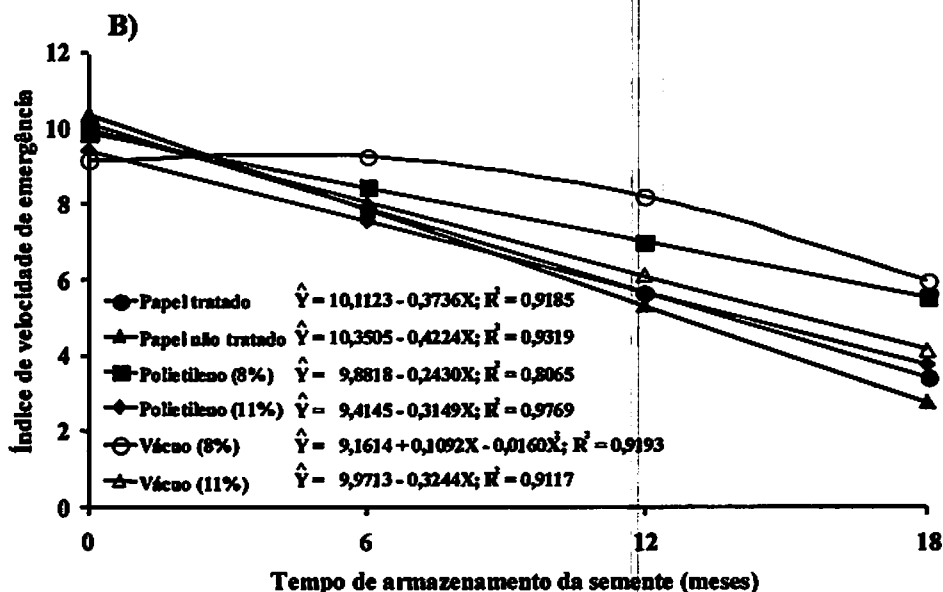
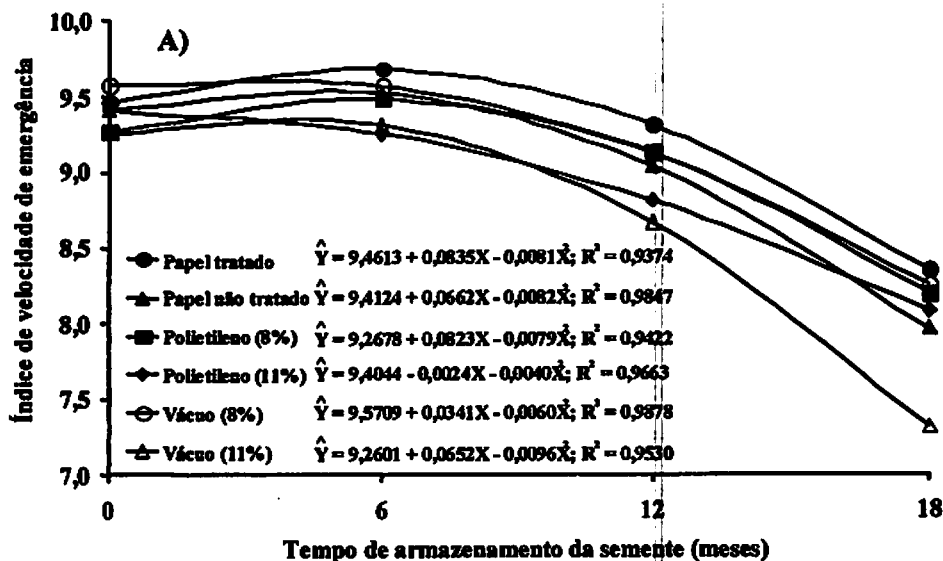


FIGURA 4. Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento (A - Câmara refrigerada; B - Ambiente natural) e do método de embalagem antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

O teste frio, por favorecer o desenvolvimento fúngico conforme relatos de Von Pinho (1995), Pinto (1996), Fialho (1997) e Mantovaneli (2001), principalmente de *Fusarium*, e o retardamento da germinação, foi especialmente capaz de detectar a melhor qualidade das sementes tratadas em relação às não tratadas nas duas condições de armazenamento utilizadas. Pelos resultados apresentados na Tabela 5, verifica-se ainda uma melhor resposta ao tratamento fungicida pelas sementes na condição de ambiente natural em relação à câmara refrigerada, concordando com Mantovaneli (2001). Em ambiente natural, as sementes embaladas a vácuo com 8 e 11% de umidade e as tratadas em embalagem de papel apresentaram, no teste frio, as maiores porcentagens de germinação a partir da terceira época de avaliação (12 meses). Já para a condição de câmara refrigerada, a figura 5 mostra claramente a superioridade do armazenamento de sementes tratadas em embalagem de papel, resultando nas maiores porcentagens de germinações no teste frio ao longo do período de armazenamento.

Na tabela 6 encontram-se os resultados médios das porcentagens de ocorrência de fungos nas sementes submetidas aos diferentes métodos de embalagem e ambientes de armazenamento, nas 4 épocas em que foram realizadas as avaliações ao longo dos 18 meses.

Dentre os fungos observados no teste de sanidade, houve maior incidência para o fungo de campo *Fusarium* sp. e para os fungos de armazenamento *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (subdivisão citada por Christensen & Sauer, 1982), concordando com os resultados encontrados por Pereira (1992) e Jorge (2001) para sementes de milho comum. Outros fungos, como *Cladosporium* sp., *Cephalosporium* sp. e *Trichoderma* sp. também foram identificados em menor porcentagem.

O pericarpo fino e freqüentemente trincado das sementes de milho doce as expõe a infecções superficiais ou internamente por fungos de diferentes gêneros, como *Fusarium*, *Penicilium*, e *Rhizopus*, dentre outros (Wilson Jr. et al., 1993). Mesmo no caso de milho comum, a incidência de patógenos nas sementes é influenciada pela presença de trincas no pericarpo (Marchi et al., 2001). O uso de fungicidas desta forma é uma alternativa para minimizar os prejuízos causados por fungos em sementes armazenadas (Moreno-Martinez et al., 1994).

Em especial no caso de sementes de milho doce, os reflexos a campo da infecção por fungos são em geral bastante expressivos, visto que características como a perda de eletrólitos durante a germinação podem estimular a ação de fungos patogênicos de solo, afetando o bom estabelecimento de estandes (Baird et al., 1994).

Para as sementes que não foram tratadas, independentemente do tipo de embalagem e do ambiente de armazenamento, o percentual de *Penicillium* sp. reduziu após 18 meses, ao contrário do observado por Kashinath e Subrata (2002) em sementes de milho comum. Mantovaneli (2001) verificou tendência de queda na incidência de *Penicillium* sp. após 12 meses de armazenamento, embora apenas nas sementes de milho mantidas em condições de câmara refrigerada. Bewley & Black (1994), por sua vez, salientam que normalmente os fungos de armazenamento têm sua incidência elevada durante o armazenamento, afetando negativamente a qualidade das sementes. Pinto (1996), entretanto, relata que enquanto o fungo *Aspergillus* sp. pode se desenvolver com teor de água abaixo de 13,1%, para *Penicillium* sp. o desenvolvimento acontece mais efetivamente em sementes com teor de água acima de 16%. Desta forma, o armazenamento com conteúdos de água relativamente mais baixos que o convencional (8 e 11%) pode ter contribuído no presente trabalho, para a redução da incidência de *Penicillium* sp. nas sementes.

TABELA 5. Porcentagem de germinação de sementes de milho doce no teste frio, em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Embalagem	Tempo de armazenamento/Condição de Armazenamento							
	Antes do armazenamento		6 meses		12 meses		18 meses	
	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural
Papel tratadas	67,50 aA	64,50 aA	68,00 aA	52,50 bB	61,50 aA	35,00 bA	54,50 aA	28,00 bA
Papel não tratadas	69,50 aA	63,00 bA	61,00 aB	51,50 bB	53,00 aB	30,50 bB	48,50 aB	19,00 bB
Polietileno (8%)	61,50 aA	66,50 aA	58,50 aB	53,00 aB	55,00 aB	29,50 bB	47,00 aB	24,00 bB
Polietileno (11%)	64,00 bA	66,50 aA	60,00 bB	66,00 aA	52,50 aB	30,50 bB	46,00 aB	23,00 bB
Vácuo (8%)	65,00 aA	60,00 bA	57,50 aB	42,00 bC	50,00 aB	39,00 bA	50,00 aB	33,00 bA
Vácuo (11%)	67,00 aA	63,50 aA	61,50 bB	71,00 aA	49,50 aB	38,50 bA	52,50 aA	29,00 bA

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott para embalagem e F para condição de armazenamento ($P < 0,05$).

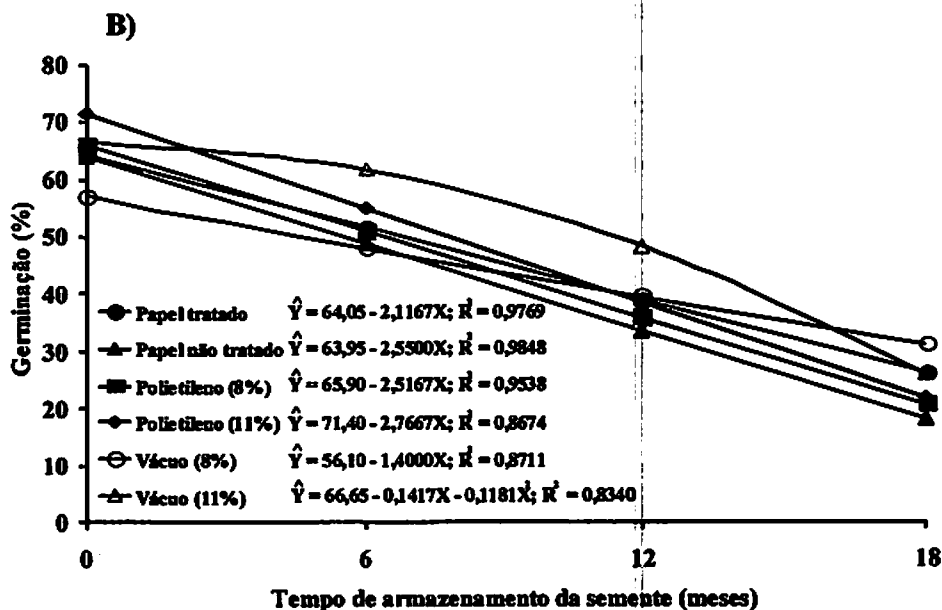
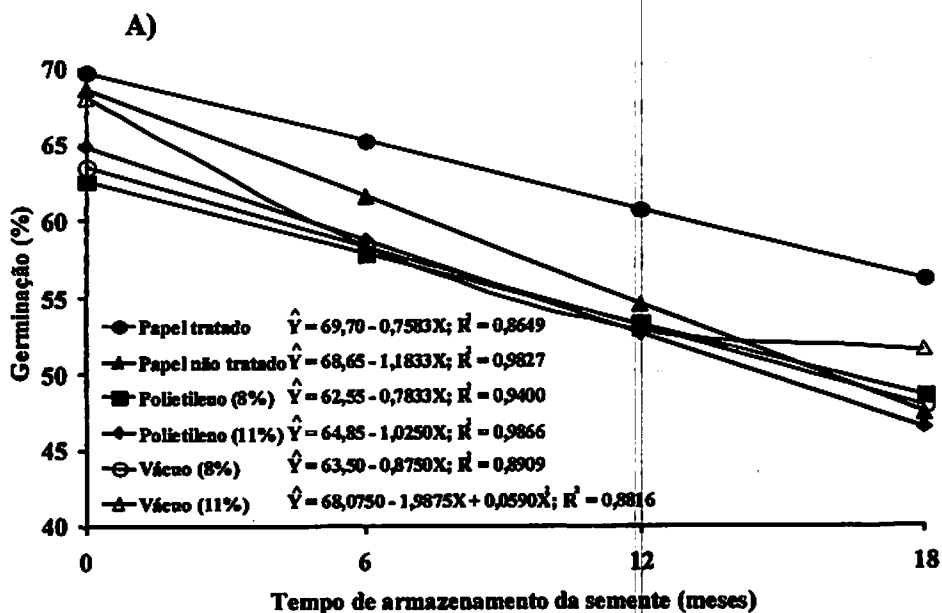


FIGURA 5. Resultados do teste frio de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento (A - Câmara refrigerada; B - Ambiente natural) e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Para *Apergillus* sp., em geral foi constatado um aumento no índice de infecção durante o período de armazenamento, concordando, assim, com os resultados verificados por Marincek (2000), Jorge (2001) e Kashinath & Subrata (2002). O dado que mais chamou a atenção, entretanto, foi que na condição de ambiente natural o fungo foi mais favorecido, razão pela qual observou-se as maiores porcentagens de contaminações em sementes, atingindo um aumento médio de 10 vezes os índices de contaminações determinados no início do armazenamento (Tabela 6).

A literatura é relativamente rica em estudos sobre determinações dos limites mínimos de conteúdo de água em sementes, que impeçam a sobrevivência de fungos de armazenamento. Enquanto para Bewley & Black (1994) e Anderson e Baker (1983) este valor seria de 13% e 13,5% respectivamente, para Harrington (1972), esses fungos podem crescer ativamente apenas em sementes com mais de 10% de umidade.

No caso do fungo *Fusarium* sp., a taxa de ocorrência em sementes não tratadas aos 18 meses se mostrou influenciada pelo ambiente de armazenamento, independentemente do tipo de embalagem. Enquanto na condição de câmara refrigerada a incidência do fungo sofreu elevação, em ambiente natural foi constatada redução. Para Tanaka et al. (2003) que observaram o mesmo comportamento para esse fungo ao longo de 14 meses de armazenamento de sementes de milho comum, a condição de câmara fria, apesar de desacelerar o processo de deterioração das sementes, favorece também a viabilidade do fungo. Mantovaneli (2001), por sua vez, avaliando o comportamento de sementes não tratadas de diferentes híbridos de milho, determinou que após 12 meses de armazenamento em condição de ambiente controlado, houve tendência de queda na incidência de *Fusarium* sp.

Segundo Abbas & Mirocha (1986), o fungo *Fusarium* sp. pode sobreviver por até 13 anos em sementes de milho na condição de baixa

temperatura. Dessa forma, conforme proposto por Meronuck (1987) e Halfon-Meire (1990), há necessidade de maiores estudos sobre o comportamento de fungos de campo em sementes armazenadas em condições de ambiente controlado.

O tratamento das sementes com fungicida mostrou-se eficiente, capaz de manter praticamente inalterada a porcentagem de infecção durante o armazenamento (Tabela 6), concordando com os resultados verificados para milho comum por Marsh (1982), Goulat & Fialho (1999) e Mantovaneli (2001). Em parte isso pode explicar, no presente trabalho, o bom desempenho das sementes tratadas, acondicionadas em embalagem de papel e armazenadas em câmara refrigerada (Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5), em especial aos 18 meses.

Foi observado, entretanto, por meio do teste de sanidade (Tabela 6), que a incidência de fungos nas sementes tratadas e acondicionadas em embalagem de papel se manteve a níveis relativamente baixos, muito próximos aos verificados no início do armazenamento, independentemente do ambiente em que foram armazenadas.

A maior perda em qualidade mostrada pelas sementes que permaneceram em armazém convencional pode, em parte, ser explicada pelo processo natural de deterioração, mais acelerado nesta condição, agravado durante a germinação pela maior susceptibilidade destas ao ataque de fungos, especialmente *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp., devido ao baixo vigor. Na avaliação pelo teste frio aos 18 meses, por exemplo (Tabela 4), o baixo vigor apresentado pelas sementes não tratadas, armazenadas em ambiente natural em sacos de papel ou em embalagem plástica com 8% de umidade, pode ser reflexo dos mais elevados índices de contaminação pelos fungos *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp., determinados pelo teste de sanidade no mesmo período de armazenamento (Tabela 6).

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 da viabilidade. No entanto, a maior atividade do fungo ocorre por ocasião da germinação das sementes infectadas, resultando em plântulas menos vigorosas. Assim, mesmo que o fungo não tenha causado dano durante o armazenamento, este pode ter efeito acentuado sobre o vigor da plântula resultante.

Como esperado, as maiores variações no grau de umidade das sementes ocorreram nos tratamentos de acondicionamento em embalagem de papel, marcadamente por uma redução no grau de umidade ao longo do armazenamento, em ambos os ambientes estudados (Tabela 7). Nos tratamentos de armazenamento em embalagens impermeáveis, as variações no grau de umidade foram pequenas, provavelmente em função de oscilações ocorridas após a abertura das embalagens.

TABELA 6. Porcentagem média de incidência de fungos em sementes de milho doce em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Tratamento*/ Armazenamento (meses)	T1				T2				T3				T4			
	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18
<i>Fusarium</i> sp.	4,7	12,5	4,0	4,1	68,0	59,0	87,5	98,0	81,3	57,5	58,5	84,5	82,0	56,6	72,0	87,5
<i>Penicillium</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	62,7	24,0	0,0	5,0	17,3	28,5	10,5	14,5	72,0	19,4	15,5	7,0
<i>Aspergillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	3,5	4,7	5,0	3,0	9,0	2,0	6,0	1,5	11,5	0,0	3,9	0,5	11,5
<i>Cladosporium</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,3	0,5	3,5	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cephalosporium</i> sp.	0,0	0,0	0,0	4,0	2,7	0,0	0,0	2,0	1,3	0,0	0,5	2,5	0,7	0,0	0,0	2,0
<i>Trichoderma</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Tratamento*/ Armazenamento (meses)	T5				T6				T7				T8			
	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18
<i>Fusarium</i> sp.	79,3	52,0	81,0	86,0	74,7	52,6	79,5	85,0	4,7	6,0	0,5	7,5	73,3	56,0	63,0	35,0
<i>Penicillium</i> sp.	59,3	23,0	14,5	10,5	61,3	25,7	5,0	13,0	5,3	0,0	0,0	0,5	49,3	20,6	5,0	6,0
<i>Aspergillus</i> sp.	2,0	5,5	4,5	10,0	0,7	12,0	7,5	12,5	0,0	0,5	0,0	0,5	7,3	10,3	3,0	78,5
<i>Cladosporium</i> sp.	4,0	0,5	3,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0
<i>Cephalosporium</i> sp.	0,0	0,5	0,0	4,0	1,3	0,0	1,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
<i>Trichoderma</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
Tratamento*/ Armazenamento (meses)	T9				T10				T11				T12			
	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18
<i>Fusarium</i> sp.	86,7	47,5	71,5	80,5	86,7	57,7	53,5	19,5	89,3	63,0	69,0	69,0	84,7	54,5	58,5	21,5
<i>Penicillium</i> sp.	52,0	15,0	5,5	5,5	53,3	12,0	12,5	15,0	46,7	18,0	6,0	8,0	53,3	21,0	0,5	7,5
<i>Aspergillus</i> sp.	0,7	9,5	7,2	78,5	1,4	11,3	27,5	63,0	0,7	7,5	8,5	48,0	0,7	9,0	21,5	75,0
<i>Cladosporium</i> sp.	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Cephalosporium</i> sp.	0,0	0,0	0,0	3,5	2,7	0,5	0,0	0,0	1,3	0,5	0,5	1,0	0,7	0,0	0,0	1,0
<i>Trichoderma</i> sp.	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0

* Tratamentos: T1 – C. refrigerada papel tratadas; T2 – C. refrigerada papel não tratadas; T3 – C. refrigerada polietileno 8%; T4 – C. refrigerada polietileno 11%; C. refrigerada vácuo 8%; T6 – C. refrigerada vácuo 11 %; T7 – Amb. natural papel tratadas; T8 – Amb. natural papel não tratadas; T9 – Amb. natural polietileno 8%; T9 – Amb. natural polietileno 11%; T11 – Amb. natural vácuo 8%; T12 – Amb. natural vácuo 11 %.

TABELA 7. Porcentagem de umidade de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras, 2003.

Embalagem	Tempo de armazenamento/Condição de Armazenamento							
	Antes do armazenamento		6 meses		12 meses		18 meses	
	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural	Câmara refrigerada	Ambiente natural
Papel tratadas	11,36 aA	11,65 aA	10,42 aB	10,36 aD	10,35 aB	10,31 aA	10,30 aA	10,92 aA
Papel não tratadas	11,60 aA	11,20 bB	10,36 bB	10,85 aC	10,37 aB	10,38 aA	10,40 aA	11,22 aA
Polietileno (8%)	8,18 aC	8,41 aC	8,27 bC	8,77 aE	8,39 bC	9,67 aB	8,30 bB	9,28 aB
Polietileno (11%)	10,99 aB	11,12 aB	10,65 bB	11,71 aA	10,36 aB	10,38 aA	10,45 aA	10,91 aA
Vácuo (8%)	8,39 aC	8,63 aC	8,17 bC	8,87 aE	8,25 aC	9,74 aB	8,31 bB	9,54 aB
Vácuo (11%)	11,37 aA	11,60 aA	11,10 aA	11,16 aB	10,55 aA	10,82 aA	10,59 bA	10,99 aA

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott para embalagem e F para condição de armazenamento ($P < 0,05$).

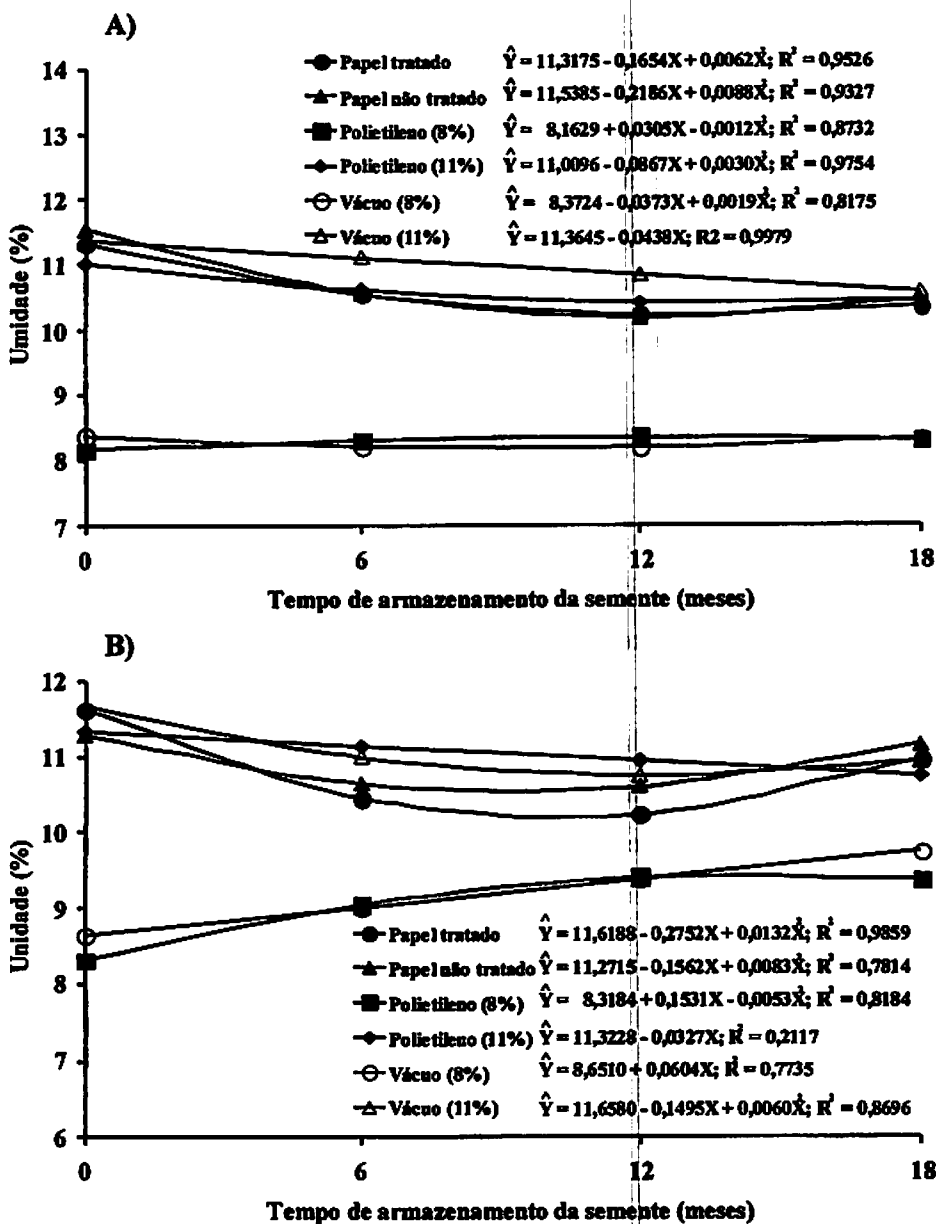


FIGURA 6. Porcentagem de umidade de sementes de milho doce, em função da condição de armazenamento (A - Câmara refrigerada; B - Ambiente natural) e do método de embalagem, antes do armazenamento e aos 6, 12 e 18 meses. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Os perfis isoenzimáticos das sementes de milho doce submetidas aos diferentes tratamentos de armazenamento nos períodos de 0, 6, 12 e 18 meses (Figuras 7 a 18) revelaram, para a álcool desidrogenase (ADH) a ausência de qualquer alteração no número e intensidade de bandas que pudesse estar associada a redução observada na qualidade fisiológica das sementes. Em milho, esta enzima apresenta dois locos fortemente ligados (Adh1 e Adh2), os quais são muito estudados sob o aspecto de regulação da expressão gênica por terem uma função definida sob condições anaeróbicas (Torggler et al., 1995).

Comumente utilizada em estudos sobre deterioração de sementes, especialmente quando se pretende avaliar a ativação da rota de respiração anaeróbica, a álcool desidrogenase atua reduzindo o acetaldeído a etanol. De acordo com Zhang et al. (1994), o acetaldeído é um importante fator que acelera a deterioração das sementes. Com a diminuição da atividade da ADH, as sementes ficam mais susceptíveis à ação deletéria deste composto. Em sementes de milho por exemplo, Throneberry & Smith (1955) e Brandão Jr. (1996) relatam haver uma correlação positiva entre viabilidade e atividade desta enzima. Camargo (1998), em um estudo sobre condicionamento osmótico de sementes de cafeeiro, utilizou a enzima álcool desidrogenase para monitorar a ativação da rota anaeróbica de respiração durante o envigoramento. Foram observadas alterações tanto no número quanto na intensidade das bandas com o aumento do tempo de permanência das sementes na solução de condicionamento, indicando maior atividade da ADH nesta condição.

O fato de não terem ocorrido diferenças nos perfis eletroforéticos entre as sementes armazenadas a vácuo e as acondicionadas em embalagem de papel ou polietileno é uma indicação de que a restrição parcial de oxigênio pela condição de vácuo (0,1 atm) não foi drástica o suficiente para que houvesse ativação da rota anaeróbica de respiração, ao menos a ponto de ser detectada pelo teste enzimático empregado.

No caso do milho doce, a enzima álcool desidrogenase não se mostrou um bom indicador de redução na qualidade das sementes, uma vez que os testes fisiológicos apontaram alterações significativas nos níveis de qualidade das sementes em função dos diferentes tratamentos de armazenamento.

Para a enzima malato desidrogenase (Figuras 11 a 14) foi verificado, apenas para as sementes acondicionadas em embalagem de polietileno com 11% de umidade e a vácuo com 8% (Figura 12), ambas na condição de câmara refrigerada, o aparecimento de uma banda não presente nos demais tratamentos. Entretanto não foram observadas quaisquer correlações com alterações na qualidade fisiológica e sanitária das sementes.

Codificadas por cinco locos, a enzima malato desidrogenase encontra-se compartimentalizada em pequenas organelas, mitocôndrias e no citosol (Goodman & Stuber, 1987). Tal característica talvez configure uma das dificuldades no uso da ADH como um marcador seguro de alterações deteriorativas em sementes. Esta enzima está presente em uma grande variedade de plantas, catalisando a reação $\text{MALATO} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{OXALACETATO} + \text{ADH}^+ + \text{H}^+$. Apresenta ainda importantes funções fisiológicas dentro da célula, como enzima no ciclo de Krebs e atua também com papel central na maioria das rotas bioquímicas das células. Em sementes de soja, Satters et al. (1994) concluíram que a atividade desta isoenzima foi a menos afetada pelos tratamentos de envelhecimento. Brandão Jr. (1996) também relata não terem sido observadas correlações entre a qualidade fisiológica de sementes de milho e a atividade da malato desidrogenase. No presente estudo, o fato de não terem sido observadas alterações nos padrões de bandas, em especial entre as sementes acondicionadas a vácuo e as em embalagem não hermética, reforça a hipótese de que a condição de restrição parcial de oxigênio não interferiu na rota aeróbica de respiração das sementes a ponto de induzir a respiração anaeróbica.

O estudo de alterações na atividade de enzimas chave dentro do processo respiratório em sementes é justificado pela hipótese de que os danos à membrana mitocondrial seriam um evento primário da deterioração das sementes (Ferguson et al., 1990). Desta forma, além de apresentar um efeito acentuado na permeabilidade das membranas, a peroxidação dos lipídios irá afetar também a atividade respiratória das células por quebrar o gradiente protônico necessário para manter o acoplamento respiratório (Wilson & McDonald, 1986)

No caso da enzima glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), também conhecida como aspartato aminotransferase, também não foi observada qualquer alteração no número e intensidade de bandas em função das diferentes condições e tempos de armazenamento (Figuras 15 a 18). Segundo Goodman e Stuber (1987), são conhecidos três locos distintos para a GOT em milho (GOT1, GOT 2 e GOT 3). Os produtos da GOT1 são expressos no glioxissomas, os da GOT 2 em plastídeos e os da GOT 3 em mitocôndrias. Descrita como uma enzima de importante papel no metabolismo de aminoácidos, a GOT catalisa a reação específica de transferência de um aminogruppo de um aminoácido ao ácido α cetoglutarato, para formar o ácido glutâmico e produzir cetoácido, e reage em diferentes velocidades com aproximadamente todos os aminoácidos protéicos, em uma reação reversível. Essas reações ocorrem sobretudo no citoplasma e o ácido glutâmico, ao qual a membrana mitocondrial é permeável, entra na matriz, na qual pode ser novamente transaminado ou desaminado pela glutamato desidrogenase. Esta é, portanto, uma enzima importante no processo de degradação e síntese de proteínas (Conn & Stump, 1980), apresentando um importante papel na germinação de sementes.

Para sementes de milho comum, Brandão Jr. (1996) observou a ocorrência de diminuição na intensidade e coloração das bandas com o aumento do tempo de envelhecimento das sementes, classificando esta enzima como um

importante marcador para a determinação de alterações em estádios iniciais de deterioração de sementes de milho. Segundo o autor, isto se dá em função da perda de atividade da enzima.

Em sementes de soja, no entanto, Chauhan et al. (1985) observaram um incremento no número de bandas com o aumento do envelhecimento das sementes, atribuído, segundo os autores, a uma maior atividade metabólica com o processo de deterioração.

No presente trabalho, não foi possível por meio da enzima glutamato-oxaloacetato transaminase, distinguir sementes oriundas de tratamentos de armazenamento cujos testes fisiológicos as classificaram de forma muito diferenciada. A redução na atividade de diversas enzimas envolvidas no metabolismo e na síntese de proteínas parece ser um importante mecanismo de deterioração para sementes de várias espécies, sobretudo para aquelas que apresentam um maior acúmulo de proteínas, como as de soja e feijão (Delouche & Baskin, 1973; Braccini et al., 2001). Em trigo por exemplo, Dell'Aquila (1994) observou que o envelhecimento de sementes foi acompanhado pelo atraso progressivo do início da germinação e pelo decréscimo de incorporação de metionina em proteínas solúveis em embriões embebidos.

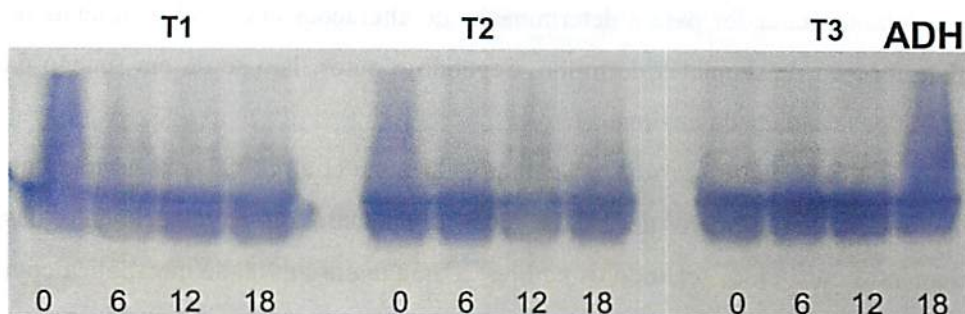


FIGURA 7. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima álcool desidrogenase (ADH). T1: c. refrigerada, papel tratada; T2: c. refrigerada, papel não tratada; T3: c. refrigerada, polietileno 8%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

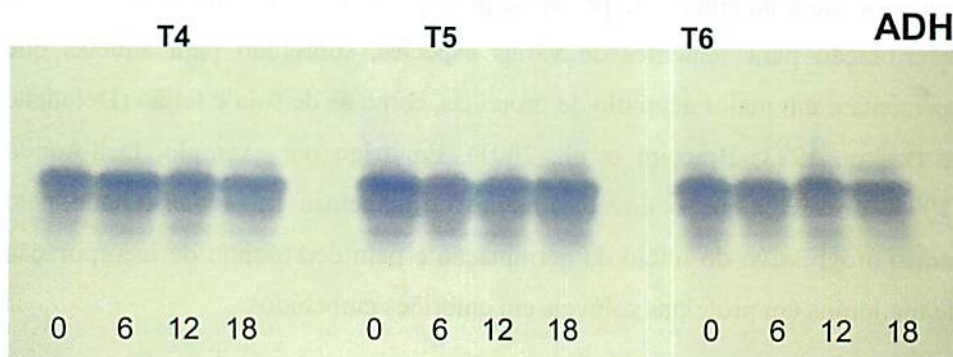


FIGURA 8. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a álcool desidrogenase (ADH). T4: c. refrigerada, polietileno 11%; T5: c. refrigerada, vácuo 8%; T6: c. refrigerada, vácuo 11%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

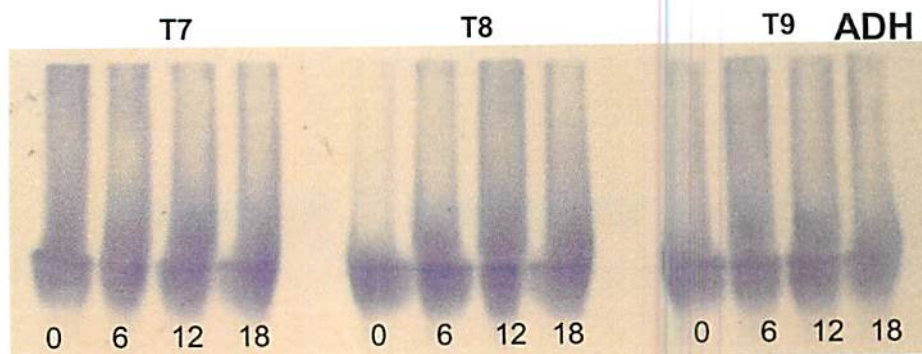


FIGURA 9. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima álcool desidrogenase (ADH). T7: amb. natural, papel tratada; T8: amb natural, papel não tratada; T9: amb. natural polietileno 8%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

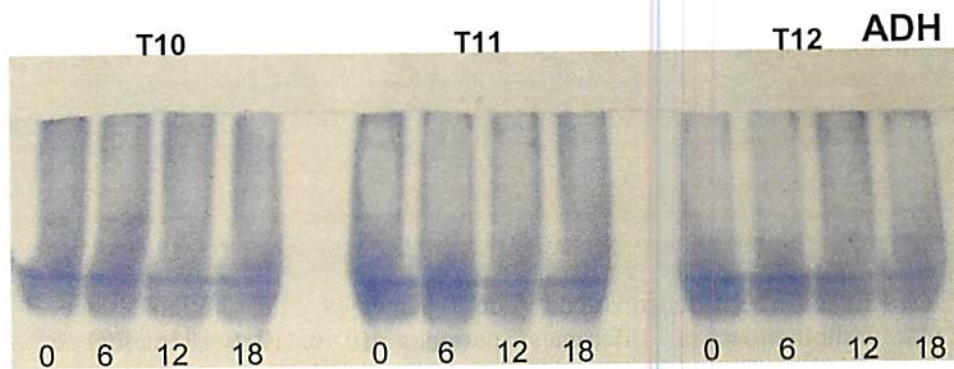


FIGURA 10. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima álcool desidrogenase (ADH). T10: amb. natural polietileno 11%; T11: amb. natural, vácuo 8%; T12 : amb. natural, vácuo 11%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

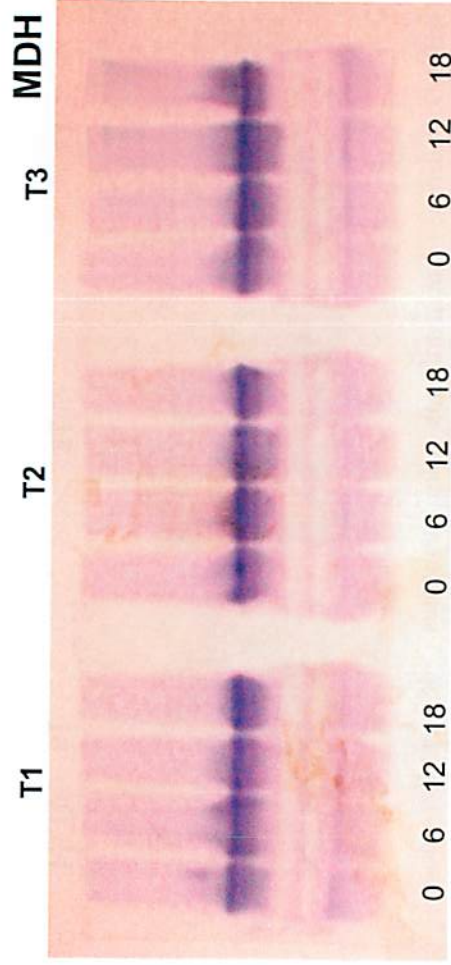


FIGURA 11. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima malato desidrogenase (MDH). T1: c. refrigerada, papel tratada; T2: c. refrigerada, papel não tratada; T3: c. refrigerada, polietileno 8%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

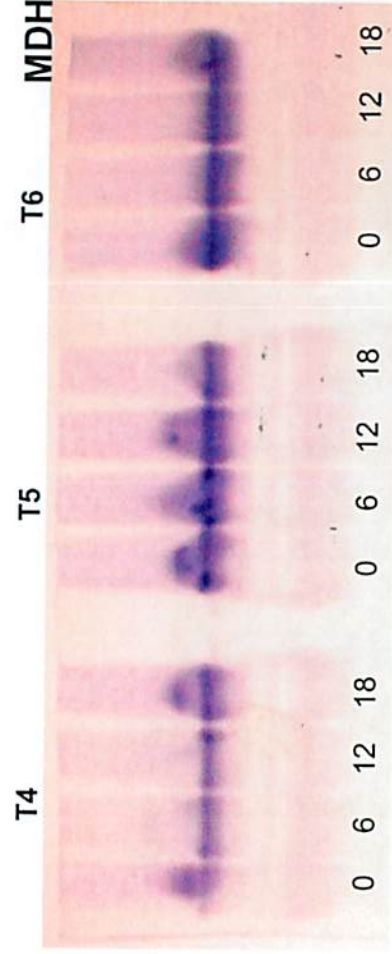


FIGURA 12. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima malato desidrogenase (MDH). T4: c. refrigerada, polietileno 11%; T5: c. refrigerada, vácuo 8%; T6: c. refrigerada, vácuo 11%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

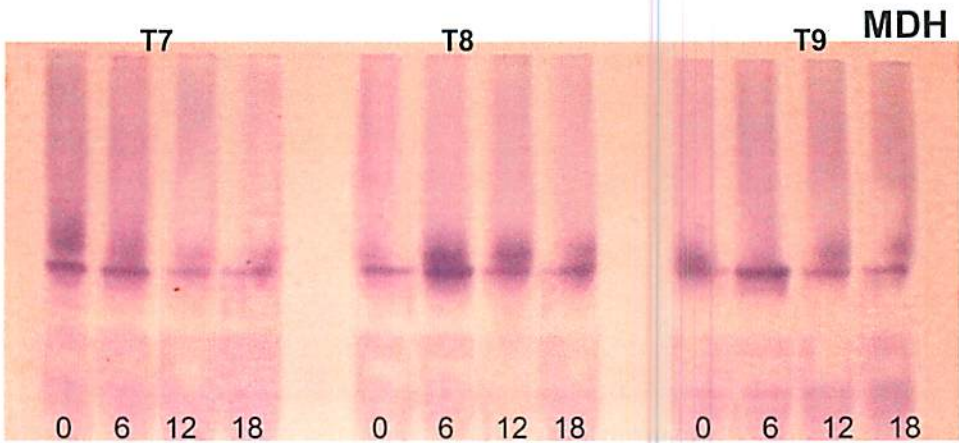


FIGURA 13. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima malato desidrogenase (MDH). T7: amb. natural, papel tratada; T8: amb. natural, papel não tratada; T9: amb. natural, polietileno 8%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

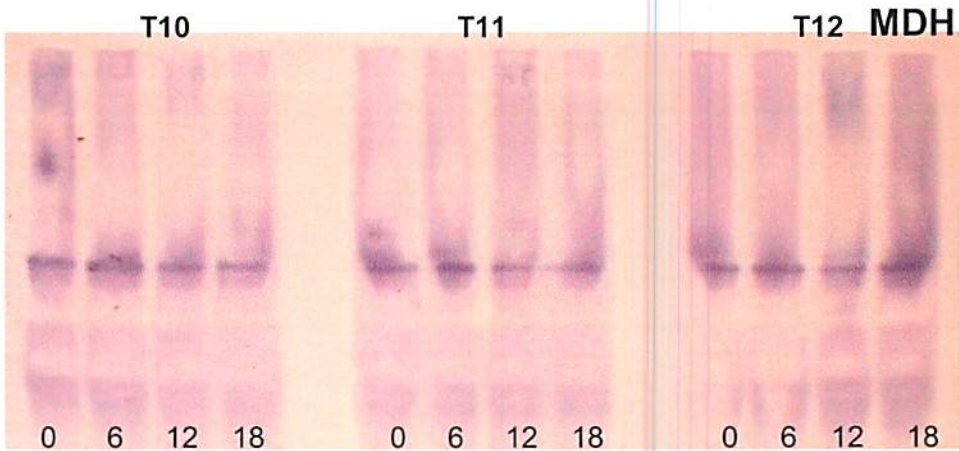


FIGURA 14. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e condições de armazenamento, reveladas para a isoenzima malato desidrogenase (MDH). T10: amb. natural, polietileno 11%; T11: amb. natural, vácuo 8%; T12: amb. natural vácuo 11%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

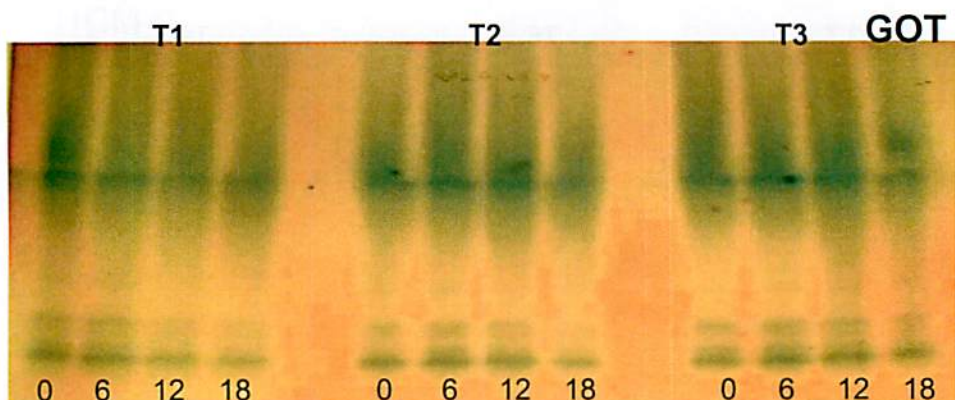


FIGURA 15. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima glutamato - oxaloacetato transaminase (GOT). T1 : c. refrigerada, papel tratada; T2 : c. refrigerada, papel não tratada; T3: c. refrigerada, polietileno 8%. UFLA, Lavras - MG, 2003.

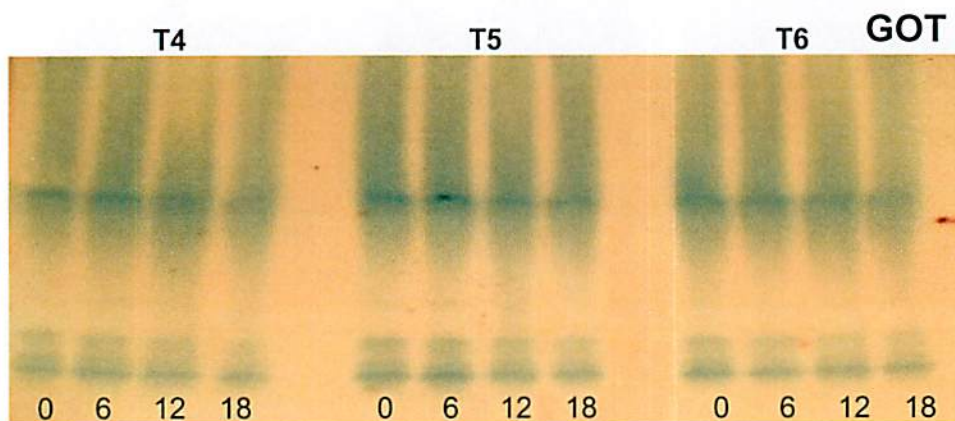


FIGURA 16. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima glutamato - oxaloacetato transaminase (GOT). T4: c. refrigerada, polietileno 11%; T5: c. refrigerada, vácuo 8%; T6: c. refrigerada, vácuo 11%. UFLA, Lavras - MG, 2003.

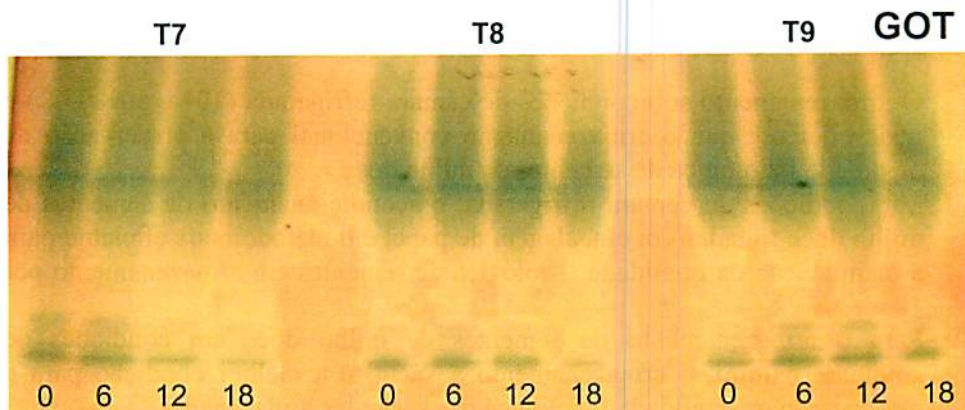


FIGURA 17. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima glutamato - oxaloacetato transaminase (GOT). T7: amb. natural papel tratada; T8: amb. natural, papel não tratada; T9: amb. natural, polietileno 8%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

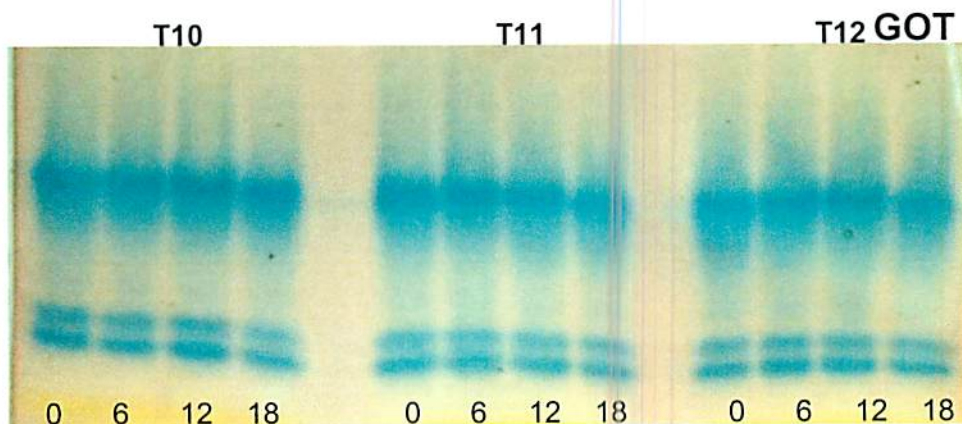


FIGURA 18. Padrões isoenzimáticos de sementes de milho doce submetidas a diferentes períodos (0, 6, 12 e 18 meses) e métodos de armazenamento, reveladas para a enzima glutamato - oxaloacetato transaminase (GOT). T10: amb. natural, polietileno 11%; T11: amb. natural, vácuo 8%; T12: amb. natural, vácuo 11%. UFLA, Lavras – MG, 2003.

5 CONCLUSÕES

- O armazenamento sob condições de câmara refrigerada (10° e 50% U.R) é mais eficiente que o armazenamento convencional para a preservação da qualidade fisiológica de sementes de milho doce.
- Sob condições de câmara refrigerada, o acondicionamento de sementes de milho doce tratadas em embalagem de papel é o método mais eficiente para a manutenção da qualidade fisiológica de sementes em armazenamento por 18 meses.
- Para o armazenamento de sementes de milho doce em condições de ambiente natural, o armazenamento a vácuo é a melhor condição para a preservação da qualidade fisiológica das sementes armazenadas.
- Alterações observadas na qualidade fisiológica de sementes de milho doce armazenadas em condições de ambiente natural ou câmara refrigerada não são detectadas pela análise dos sistemas enzimáticos álcool desidrogenase, malato desidrogenase e glutamato-oxaloacetato transaminase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.; MIRROCHA, C. J. Survival of *Fusarium graminearum* on stored at low temperature. *Plant Disease*, St. Paul, v. 70, p. 78, 1986. Supplement.
- AGRIANUL - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FEP, 2001. 370 p.
- AGUIRRE, R.; PESKE, S. T. Required bean seed moisture content for hermetic storage. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 19, n. 1, p. 117-122, 1991.
- ALFENAS, A. C.; PETRES, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G. C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: UFV, 1991, 242 p.
- ANDERSON, J. D.; BAKER, E. Deterioration of seeds during ageing. Symposium: Deterioration mechanism in seeds. *Phytopathology*, St. Paul, v. 73, n. 2, p. 321-325, Feb. 1983.
- ARAÚJO, E. F. Efeito da temperatura e umidade relativa do ar de secagem sobre a qualidade fisiológica e determinação de equilíbrio higroscópico de sementes de milho doce. Campos dos 1999. 128 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – UENF, Campos dos Goytacazes.
- ARAÚJO, E. F.; SILVA, R. F.; CORREA, P. C. SINÍCIO, R.; PEREIRA, M. G.; REIS, M. S. Efeito de diferentes condições de secagem na qualidade fisiológica de sementes de milho doce cultivar BR 402 durante o armazenamento. *Informativo Abrates*, Brasília, v. 11, n. 2, p. 72, set. 2001.
- AUNG, U. T.; McDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hipogaea* L.) seed deterioration. *Seed Science Technology*, Zürich, v. 23, n. 1, p. 101-111, 1995.
- AZANZA, F.; BAR-ZUR, A.; JUVIK, J. A. Variation in sweet corn kernel characteristics associated with stand establishment and eating quality. *Euphytica*, Amesterdan, v. 87, n. 1, p. 7-18, 1996.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflowers seeds as related do deterioration during accelerated ageing. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, v. 97, n. 1, p. 104-110, May 1996.

BAIRD, R. E.; MOGHADDAM, P. F.; PATAKY, J. K. Evaluation of seed treatments on shrunken-2 sweet corn. *Plant Disease*, St. Paul, v. 78, n. 8, 1994, p. 817-825, Aug, 1994.

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

BASS, L. N.; CLARK, D. C.; JAMES, E. Vacuum and inert-gas storage of safflower and sesame seeds. *Crop Science*, Madison, v. 3, n. 3, p. 237-240, May/June 1963.

BEE, R. A.; BARROS, A . C. S. A. Sementes de abóbora armazenadas em condições de vácuo. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 120-126, 1999.


BEGNAMI, C. N.; CORTELAZZO, A. L. Cellular alterations during accelerated aging of French bean seeds. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 24, n. 2, p. 295-303, 1996.

BENAMAR, A.; TALLON, C.; MARCHEREL, D. Membrane integrity and axidative properties of mitochondria asolates from imbibing pes seeds after priming or accelerated ageing. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 13, n. 1, p. 35-45, Mar. 2003.

BERJAK, P. Seed stored problems: our research program. In: *ADVANCED INTERNATIONAL COURSE ON SEED PATHOLOGY*, 1987, Passo Fundo. *Proceedings...* Passo Fundo: EMBRAPA, 1987. p. 113-130.

BERNAL-LUGO, I.; LEOPOLD, A. C. Changes in soluble carbohydrates during seed storage. *Plant Physiology*, Rockville, v 98, n. 3, p. 1207-1210, Mar. 1992.

- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum press, 1994. 445 p.
- BINGHAM, L. J.; HARRIS, A.; McDONALD, L. A comparative study of radicle and coleoptile extension in maize seedlings from age and unaged seed. **Seed Science Technology**, Zürich, v. 22, n. 1, p. 127-139, 1994.
- BRANDÃO Jr., D. S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho**. 1996. 110 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BRANDÃO Jr., D. S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- CAMARGO, R. **Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 1998. 108 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, M. L. M. **Refrigeração e qualidade de sementes de milho armazenadas em pilhas com diferentes embalagens**. 1992. 98 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 326 p.
- CHAUHAN, K. P. S.; GOPINATHAN, M. C.; BABU, C. R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 13, n. 3, p. 629-41, 1985.
- CHEECH, R. G. Carbohydrate synthesis in maize. **Advances in Agronomy**, New York, v. 20, p. 275-322, 1968.
- CHEECH, R. G.; Mc ARDLE, F. J. Gene interaction for qualitative changes in carbohydrates in maize kernels. **Crop Science**, Madison, v. 6, n. 2, p. 192-194, 1966.



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, 1982. p. 219-240.

COELLO, P.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. M. Maize DNA polymerase 2 (an α -type enzyme) suffers major damage after seed deterioration. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, n. 1, p. 1-7, Mar. 1996.

CONN, E. C.; STUMPF, P. K. **Introdução à Bioquímica**. São Paulo: Edgard Bliicher, 1980. 451 p.

COPELAND, L. O.; McDONALD Jr, M. B. **Seed Science and Technology**. 3 ed. New York: Chapman e Hall, 1995. 409 p.

CREECH, R. G. Genetic control of carbohydrate synthesis in maize endosperm. **Genetics**, Baltimore, v. 52, n. 6, p. 1175-1786, 1965.

CROCKER, N.; HARRINGTON, G. T. Catalase and oxidase content of seeds in relation to their dormency, age, vitality and respiration. **Journal of Agricultural Research**, Islamabad, v. 15, n. 3, p. 137-174, Mar. 1918.

CRUZ-GARCIA, F.; GONZALEZ-HERNANDEZ, V. A.; MOLINA-MORENO, J.; VAZQUEZ-RAMOS, J. M. Seed deterioration and respiration as related to DNA metabolism in germinating maize. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 2, p. 477-486, 1995.

DAS, G.; SEM-MANDI, S. Scutellar amylase activity in naturally aged and accelerated aged Whet seeds. **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 6, p. 479-501, June 1992.

DELL AQUILA, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 3, p. 293-298, Sept. 1987.

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

DICKINSON, D. B.; BOYER, C. D.; VELU, J. G. Reserve carbohydrates from kernels of *sugary* and *sugary enhancer* maize. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 1371-1373, June 1983.

DICKINSON, D. B.; PREIS, J. Presence of ADP-glucose pyrophosphorylase in Shrunken-2 and brittle-2 metants of maize endosperm. **Plant Physiology**, Rockville, v. 44, n. 7, p. 1058-1062, July 1969.

DOUGLASS, S. K.; JUVIK, J. A.; SPLITTSTOESSER, W. E. Sweet corn seedling emergence and variation kernel carbohydrate reserves. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 21, n. 2, p. 433-445, 1993.

EDWIN, J. Device for vacuum and inert-gas sealing of tin cans. **Agronomy Journal**, Madison, v. 53, n. 4, p. 278, July/Aug. 1961.

ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. Improved equations for the prediction of seed longevity. **Annals of Botany**, London, v. 45, n. 1, p. 13-30, 1980.

FERGUSON, J. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. M. Changes during early soybean seed and axes deterioration: II. Lipids. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 1, p. 179-182, Jan./Feb. 1990.

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

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

FREITAS, G. B. Influência das condições de armazenamento na conservação de três lotes de sementes de milho (*Zea mays* L.). Viçosa: UFV, 1992. 76 p.

GIDROL, X.; NOUBHANI, A.; MOCQUOT, B.; FOURNIER, A. PRADET, A. Affect of accelerated aging on protein synthesis in two legume seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 26, n. 3, p. 281-288, May/June 1988.

GOLOVIAN, E. A.; WOLKERS, W. F.; HOESKTRA, F. A. Behaviour of membranes and proteins during natural seed ageing. In: ELLIS, R. H.; BLACK, M.; MURDOCH, A. J.; HONG, D T. D. (Ed.). **Basic an applied aspects of seed biology**. 1997. p. 787-796.

GOODMAN, M. M.; STUBER, C. W. *Mayze*. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isoenzymes in Plants Genetics and Breeding. (Part B)**, Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 1-33.

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

GRILLI, I.; BACCI, E.; LOMBARDI, T.; SPANO, C.; FLORIS, C. Natural ageing: Poly(A) polimerase in germinating embryos of *Triticum durum* wheat. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 1, p. 15-21, July 1995.

GUISCHEM, J. M.; NAKAGAWA, J.; ZUCARELLI, C. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce BR 400 (bt) em função do teor de água na colheita e da temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 220-228, 2001.

GUISCHEM, J. M.; ZUCARELLI, C.; NAKAGAWA, J.; ZANOTTO, M. D. Fungos associados a sementes de milho doce das cultivares BR 400 (bt), BR 401 (su) e BR 402 (SU). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 247, 2001.

HALDER, S.; KOLE, S.; GUPTA, K. On the mechanism of sunflower seed deterioration under two different types of accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 11, n. 2, p. 331-339, 1983.

HALFON-MEIRI, A.; SOLEL, Z. Factors affecting seedling blight of sweet corn caused by seed borne *Penicillium oxalicum*. **Plant Disease**, St Paul, v. 74, n. 1, p. 36-39, Jan. 1990.

HANNAH, L. C.; NELSON, O. E. Characterization of ADP-pyrophosphorylase from shrunken-2 na brittle-2 mutants of maize. **Biochemical Genetics**, New York, v. 14, n. 7/8, p. 547-560, 1976.

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

HARRIS, M. J.; DeMASON, D. A. Comparative kernel structure of three endosperm mutants of *Zea mays* L. relating to seed viability and seedling vigor. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, n. 2, p. 428-431, Feb. 1989.

HE, L.; BURRIS, J. S. Respiration and carbohydrate metabolism during germination of sh2 and Sh2 sweet corn seed. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 12, p. 1306-1308, Dec. 1992.

HENNING, A. A.; FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYNANOWSKY, F. C.; COSTA, N. P.; INTROVINI, G. Qualidade da semente de soja armazenada em embalagens plásticas impermeáveis em diferentes ambientes, na região de balsas MA. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 69, set. 2001a.

HENNING, A. A.; FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYNANOWSKY, F. C.; MENDONÇA, E. A. F.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Embalagem de sementes de soja para armazenamento em regiões tropicais e subtropicais. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 11 n. 2, p. 88, set. 2001b.

HUNG, P. E.; FRITZ, V. A.; WATERS Jr. L. Infusion of shrunken-2 sweet corn seed with organic solvents: Effects on germination and vigor. **Hortscience**, Alexandria, v. 27, n. 5, p. 467-470, May 1992.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. **Handbook of vigour test methods**. Zurich, Switzerland: ISTA, 1995. 117 p.

JAMES, E. Preservation of seeds stocks. **Advances in Agronomy**, London, v. 19, p. 87-106, 1967.

JORGE, M. H. A. **Qualidade fisiológica sanitária de sementes de milho colhidas e secadas em espiga**. 2001. 86 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

KALPANA, R.; MANDHAVA RAO, K. V. Lowered lipoxygenase activity in seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) cultivars during accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 21, n. 1, p. 269-272, 1993.

KALPANA, R.; MANDHAVA RAO, K. V. Nucleic acid metabolism of seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) cultivars during accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 25, n. 2, p. 293-301, 1997.

KALPANA, R.; MANDHAVA RAO, K. V. On the ageing mechanism in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 1, p. 1-9, 1995.

KASHINATH, B.; SUBRATA, R. Deteriorative changes of maize groundnut and soybean seeds by fungi in storage. *Mycopathologia*, New Delhi, v. 155, n. 3, p. 135-141, 2003.

KRZYZANOWSKI, S. H.; WEST, S. H.; FRANÇA-NETO, J. B. Influência do conteúdo de isoflavonas sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja. *Informativo Abrates*, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 47, set. 2001.

LAL, S. P.; KAPOOR, J. N. Succession of fungi in wheat and maize during storage. *Indian Phytopathology*, New Delhi, v. 32, n. 1, p. 102-104, Mar. 1979.

LOCHER, R.; BUCHELI, P. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. *Crop Science*, Madison, v. 38, n. 5, p. 1229-1235, Sept./Oct. 1998.

MACHADO, J. A. **Melhoramento genético do milho doce (*Zea Mays* L.).** 1980. 78 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações.** Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 107 p.

MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C.; TAKAKI, M. Evaluation of naturally and artificially aged seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 29, n. 1, p. 137 - 149, 2001.

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, jan. 1987.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination-aid seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MANTOVANELI, M. C. H. **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. 173 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MARCH, R. W. **Systemic fungicides.** London: Longman, 1982. 321 p.

MARCHI, J. L.; MACHADO, C. F.; MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Relação entre ocorrência de danos mecânicos, tratamento fungicida e incidência de patógenos em sementes de milho. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 150, 2001.

MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, MB. Sensivity of RAPD analysis, germination and vigour detect the intensity of deterioration of naturally and artificially aged soybean seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 1, p. 141-157, 1998.

MARINCEK, A. **Qualidade de sementes de milho produzidas sob diferentes sistemas de manejo no campo e em pós-colheita**. 2000. 105 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MARSHALL, S. W. Sweet corn. In: WATSON, S. A.; RAMSTAD, P. E. (Ed.). **Chemistry and technology**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1987. p. 431-445.

MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. **Outlook on Agriculture**, Oxon, v. 14, n. 2, p. 89-94, 1985.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

McDONALD, M. B. Seed quality assessment. **Seed Science Research**. Wallingford, v. 8, n. 2, p. 265-275, June 1998.

MERONUCK, R. A. The significance of fungi in cereal grais. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 3, p. 287-291, Mar. 1987.

MELO, J. V. R.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C. Armazenamento de sementes de piaçaveira (*Attalea funifera* Mart. - Arecaceae) em diferentes ambientes e tipos de embalagens. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 74, 2001.

MIRANDA, F. F. **Qualidade de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.), armazenamento com diferentes níveis de umidade no vácuo**. 1997. 35 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

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. *Seeds Science and Technology*, Zürich, v. 22, n. 3, p. 542-549, 1994.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. *Harper: Bioquímica*. São Paulo: Atheneu, 1994. 763 p.

NEW, J. H. Studies on vacuum packing of seed. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 16, n. 3, p. 715-723, 1988.

NKANG, A.; OMOKARO, D.; EGBE, A. Effects of desiccation on the lipid peroxidation of peroxidase and polyphenoloxidase in seeds of *Telfairia occidentalis*. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2000.

O'DOWD, E. T.; DOBIE, P. Reducing viability losses in open seed stores in tropical climates. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 11, n. 1, p. 57-75, 1983.

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

PARENTONI, S. N.; GAMA, E. E. G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; VILAS BOAS, G. L. Milho doce. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 14, n. 165, p. 17-22, 1990.

PARERA, C. A.; CANTLIFFE, D. J. Presowing seed treatments to enhance sweeter sweet corn seed and seedling quality. *HortScience*, Alexandria, v. 29, n. 4, p. 277-278, Apr. 1994.

PARERA, C. A.; CANTLIFFE, D. J.; McCARTY, D. R.; HANNAH, L. C. Improving vigor in shrunken-2 corn seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v. 121, n. 6, p. 1069-1075, Nov. 1996.

PEAT, S.; WHELAN, W. J.; TURVEY, J. R. The soluble polyglucose of sweet corn (*Zea mays* L.). *Journal of Chemical Society*, Cambridge, v. 14, n. 7, p. 2317-2322, July 1956.

PERDOMO, A.; BURRIS, J. Histochemical, Physiological, and Ultrastructural changes in the maize embryos during artificial drying. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 7, p. 1236-1244, Sept./Oct. 1998.

PEREIRA, J. A. M. Água no grão. In: **Curso de armazenamento de sementes**. Viçosa: Centreinar, 1992. (Treinamento na área de pós-colheita - cursos para técnicos de cooperativas).

PEREZ, M. A.; ARGUELLO, J. A.; Deterioration in peanut (*Arachis hypogaea* L. cv. Florman) seeds under natural and accelerated aging. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 2, p. 439-445, 1995.

PESSOA, H. B. S. V. Produção de sementes genéticas de milho doce (*Zea mays* var. sacharata, L.): um exemplo com a cultivar super doce. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 6, n. 1, p. 62-72, 1996.

PINTO, N. F. J. de A. Controle de patógenos em grãos de milho armazenados. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 22, n. 1, p. 77-78, jan./mar. 1996.

PREISS, J. Regulation of ADP glucose pyrophosphorylase. In: MEISTER, A. (Ed.). **Advances in enzymology and related areas of molecular biology**. New York: Wiley, 1978. 432 p.

RAJPUT, A. Effect of storage conditions on seed longevity. **Journal of Tropical Forestry**, Edinburgh, v. 12, p. 220-229, 1996.

RANDHAWA, H. S.; DEY, S. K.; KAURI, J.; SHARMA, H. L.; HARI, S.; KHEHRA, A. S.; SINGH, H. Studies on the 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.

RAY, M. B.; HALDER, S.; GUPTA, K. Differential responses of early and late cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) seeds under accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 18, n. 3, p. 823-831, 1990.

ROBERTS, E. H. Loss of viability, ultrastructural and physiological aspects. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 3, p. 529-73, 1973.

ROSINHA, R. O. Estratégias Competitivas e Reestruturação da Indústria de Sementes no Brasil: a análise de seguimento de milho. 2000. 143 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ROUZIÉRE, A. Storage of shelled groundnut seed in controlled atmosphere. I. Preliminary trials. Oleagineux, Paris, v. 41, p. 329-344, 1986 .

SALGADO, K. C. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; SOUZA, L. V. Certificação da pureza genética em sementes híbridas de milho por marcadores isoenzimáticos. Informativo ABRATES, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 239, set. 2001.

SANTOS, P. M.; GONDRIM, T. C. O.; ARAÚJO, E. F.; DIAS, D. C. F. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho pelo teste de envelhecimento acelerado. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 24, n. 1, p. 91-96, 2002.

SHATTERS JR.; ABDEL-GHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S. H. Soybean seed deterioration and response to priming: Changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. Seed Science Research, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 33-41, Mar. 1994.

SILVA, N. Melhoramento de milho doce. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 11., 1994, Piracicaba. Anais... Piracicaba: ESALQ, 1994. v. 11, p. 45-49.

SMITH, M. T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccations of seed associated Mycroflora During atorage. In: JAIME, K.; GALILI, G. Seed development and germination. New York: Basel-Hang Young 1995. p. 701-746.

STYER, R. C.; CANTLIFFE, D. J. Dependence of seed vigour during germination on carbohydrate source in endosperm mutant of maize. Plant Physiology, Rockville, v. 76, n. 1, p. 196-200, Sept. 1984.

STYER, R. C.; CANTLIFFE, D. J. Relationship between environment during seed development and seed vigor of two endosperm mutant of corn. Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria, v. 108, n. 5, p. 717-720, Sept. 1983.

STYER, R. C.; CANTLIFFE, D. J.; HANNAH, L. C. Differential seed and seed and seedling vigor in shrunken-2 compared to three other genotypes of corn at various stages of development. **Journal American Horticultural Science**, Columbus, v. 23, p. 329-332, 1989.

TANAKA, M. A. S.; MAEDA, J. A.; PLAZAS, H. A. Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 370-373, set. 2003.

TAO, K. L. Should vacuum packing be used storage in genebanks? **Plant Genetic Resources**, Rome, v. 88, n. 1, p. 27-30, 1992.

THAPLIYAL, R. C.; CONNOR, K. F. Effects of accelerated ageing on viability leachate exudation, and fatty acid content of *Dalbergia sissoo* Roxb. Seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 25, n. 2, p. 311-319, 1997.

THRONEBERRY, G. O.; SMITH, F. G. Relation of respiratory and enzymatic activity to corn seed viability. **Plant Physiology**, New York, v. 30, n. 4, p. 337, July 1955.

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

TOSSELO, G. A. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. R. **Melhoramento e produção de milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 373-408.

TRACY, W. F. Sweet Corn. In: HALAUER, A. R. **Speciality corns**. Ames: Iowa State University, 1994. Cap. 6, p. 147-88.

TRAWATHA, S. E.; TEKRONY, D. M.; HILDEBRAND, D. F. Soybean lipoxygenase mutants and seed longevity. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 862-868, May/June 1995.

TREAT, C. L.; TRACY, W. F. Endosperm type effects on biomass production and stalk and root quality in sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 2, p. 396-399, Mar./Apr. 1994.

TSAL, C. Y.; NELSON, O. E. Starch deficient maize mutant lacking adenosine diphosphate glucose pyrophosphorilase activity. **Science**, New York, v. 151, n. 3708, p. 341-343, Jan. 1966.

TYAGI, C. S. Evaluating the effect of weathering on soybean seed using a volatile aldehyde assay. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 20, n. 3, p. 719-721, 1992.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS. Centro de Treinamento e Informação do Sul. Embalagem. In: **Curso para produção de sementes de soja**. Pelotas, 1973. p. 61-72. (Documentos).

VAN PIJLEN, J. G.; KRAAK, H. L.; BINO, R. J.; DE VOS, C. H. R. Effects of ageing and osmopriming on germination characteristics and chromosome aberrations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 3, p. 823-830, 1995.

VAZQUEZ-RAMOS, J. M.; LOPEZ, S.; VAZQUEZ, E.; MURILLO, E. DNA polymerase activity in deteriorated maize embryo axes. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 133, n. 5, p. 600-604, Dec. 1988.

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.

WANN, E. V. Leaching of metabolites during imbibition of sweet cornseed of different endosperm genotypes. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 4, p. 731-733, July/Aug. 1986.

WANN, E. V.; BROWN, G. B.; HILLS, W. A. Genetic modifications of sweet corn quality. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 96, p. 441-444, 1971.

WILSON, D. O.; MOHAN, S. K. Seedling blight of sweet corn. Idaho Agricultural Experiment Station Current, 1991. 879 p.

WILSON, 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, Apr. 1993.

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

ZHANG, M.; LUI, Y.; TORII, I.; SASAKI, H.; ESASHI, Y. Evolution of volatile compounds by seeds during storage periods. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 21, n. 2, p. 359-373, 1993.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FUTIHATA, Y.; NORAMURA, Y-I.; ESASHI, Y. A machanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. *Seed Science Research*, Washington, v. 4, n. 1, p. 49-56, Mar. 1994.

ZHANG, M.; YAJIMA, H.; UMEZAWA, Y.; NAKAGAWA, Y.; ESASHI, Y. GC-MG identification of volatile compounds envolved by dry seeds in relation to storage conditions. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 23, n. 1, p. 59-68, 1995.

ANEXOS

	Página
ANEXO A	
TABELA 1A	
Resumo da análise de variância para 1ª contagem de germinação, teste de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), índice velocidade de emergência (IVE), teste frio e grau de umidade. UFLA, Lavras-MG, 2003.....	78

TABELA 1A. Resumo da análise de variância para primeira contagem de germinação, percentagem de germinação, índice velocidade de germinação (IVG), índice de velocidade de emergência (IVE), teste frio e umidade. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Quadrado Médio	FV	GL	Variável estudada				
			Germinação 1ª contagem	Germinação	IVG	IVE	Teste frio
Epoca de avaliação (EA)	3	4920,2917**	485,2969**	162,0076**	118,7233**	1898,3056**	2,5212**
Ambiente de armazenamento(AA)	1	285,1875**	584,5052**	23,9984**	163,2825**	1900,0833**	17,4544**
Método de acondicionamento(MA)	5	23,6083**	6,1344	0,7274**	4,2023**	39,3500**	35,9062**
EA * AA	3	127,4236**	189,5608**	8,8747**	40,7075**	349,6667**	2,7442**
EA * MA	15	17,60**	29,9510**	2,0364**	1,5782**	24,4056**	1,5761**
AA * MA	5	23,8125**	37,4427**	3,1414**	3,1700**	35,8333**	0,6993**
EA * AA * MA	15	22,6319**	26,4649**	1,7039**	1,3149**	21,5667**	0,7532**
Resíduo	144	4,5347	3,1788	0,21165	0,1498	3,9549	0,0644
C. V (%)	-	9,97	4,95	5,33	4,81	7,76	2,53

** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F; * significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

ANEXO B

Página

TABELA 1B	Valores médios de umidade relativa e temperatura do ar no período de março de 2000 a agosto 2001, medidos na Usina de Beneficiamento de Sementes da UFLA, Lavras-MG, 2003.....	80
------------------	---	-----------

TABELA 1B. Temperatura média mensal e umidade relativa média registrada na Usina de Beneficiamento de Sementes da UFLA durante o período de armazenamento das sementes em ambiente natural. UFLA, Lavras-MG, 2003.

MESES	TEMPERATURA (°C)	UMIDADE RELATIVA (%)
Março/2001	23,30	72,05
Abril/2001	21,03	69,50
Maió/2001	18,00	69,00
Junho/2001	17,90	67,24
Julho/2001	17,43	63,19
Agosto/2001	19,82	62,86
Setembro/2001	20,38	64,86
Outubro/2001	22,40	73,00
Novembro/2001	24,00	72,03
Dezembro/2001	26,55	71,56
Janeiro/2002	23,55	75,50
Fevereiro/2002	24,68	70,01
Março/2002	24,56	69,68
Abril/2002	23,80	69,10
Maió/2002	21,70	68,00
Junho/2002	18,90	66,98
Julho/2002	21,00	65,65
Agosto/2002	19,10	63,07
Média no período	21,56	68,51