

**MATURAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO:
ASPECTOS FÍSICOS, BIOQUÍMICOS E
FISIOLÓGICOS**

MARIA APARECIDA VILELA DE RESENDE FARIA

2003

MARIA APARECIDA VILELA DE RESENDE FARIA

**MATURAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO: ASPECTOS FÍSICOS,
BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como exigência do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Renzo Garcia Von Pinho

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003**

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

Faria, Maria Aparecida Vilela de Resende

Maturação de sementes de milho: aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos / Maria Aparecida Vilela de Resende Faria. -- Lavras : UFLA, 2003.

129 p. : il.

Orientador: Renzo Garcia Von Pinho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Milho. 2. Semente. 3. Maturidade fisiológica. 4. Época de colheita. 5. Linha de leite. 6. Tolerância à dessecação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.1521

MARIA APARECIDA VILELA DE RESENDE FARIA

**MATURAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO: ASPECTOS FÍSICOS,
BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como exigência do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 13 de maio de 2003

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães - UFLA

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

Dr. Paulo César Magalhães - EMBRAPA- Milho e Sorgo

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

**Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho
UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

Aos meus pais Augusto e Neyme

Aos meus irmãos Márcio, Mário, Marcos e Álvaro

Ao meu esposo Fábio pela compreensão, amor e
apoio em todos os momentos

OFEREÇO

Ao meu principal co-autor,

meu filho Alex

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, proteção, força e guia de todas as horas.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Renzo Garcia Von Pinho pela orientação, apoio e amizade.

À querida professora Édila Vilela de Resende Von Pinho pelos ensinamentos além sala de aula, pela orientação e pelo incentivo.

Ao professor Renato Mendes Guimarães pela co-orientação, amizade e apoio.

À empresa Monsanto do Brasil S.A, representada pelos profissionais Osvaldo Pereira, Eric Godoi, José Geraldo Guimarães e Adeval Correa pelo apoio fundamental para a realização deste trabalho.

Aos professores, pesquisadores e funcionários do setor de sementes e do Departamento de Agricultura pelo aprendizado, colaboração e convivência amigável.

Aos colegas e amigos do curso de pós- graduação, Andrea, Kalinka, Solange, Stella, Sandro, Maria de Lourdes, Elisa, Luciana, Lilian, Marçal, Reginaldo, Dinara, Anderson e Elza, pelos grandes momentos de ajuda e aprendizado mútuo.

Aos bolsistas do “milho e das sementes”, em especial ao Fabrício Elias de Oliveira Freitas, pela disposição e capacidade constantes para a labuta.

Aos meus familiares e a Fabiana Andrade, que tornaram possível essa realização.

SUMÁRIO

| | |
|---|------------|
| LISTA DE ABREVIATURAS | i |
| RESUMO..... | ii |
| ABSTRACT..... | iii |
| CAPÍTULO 1..... | 1 |
| 1 INTRODUÇÃO GERAL..... | 2 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 5 |
| 2.1 Determinação da maturidade fisiológica em sementes de milho e o efeito de épocas de produção..... | 5 |
| 2.2 Desenvolvimento de sementes e aquisição de germinabilidade e tolerância à dessecação..... | 11 |
| 2.3 Tolerância à dessecação e proteínas “LEA”..... | 17 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 22 |
| CAPÍTULO 2: QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE “LINHA DE LEITE” | 29 |
| RESUMO..... | 30 |
| ABSTRACT..... | 31 |
| 1 INTRODUÇÃO | 32 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 35 |
| 2.1 Produção, colheita e secagem..... | 35 |
| 2.2 Características avaliadas | 38 |
| 2.2.1 Teor de água..... | 38 |
| 2.2.2 Teste de germinação | 39 |
| 2.2.3 Teste de frio..... | 39 |
| 2.2.4 Teste de envelhecimento acelerado | 39 |
| 2.2.5 Teste de condutividade elétrica | 40 |
| 2.3 Análise estatística | 40 |

| | |
|---|-----------|
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 41 |
| 4 CONCLUSÃO | 54 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 55 |
| CAPÍTULO 3: GERMINABILIDADE E TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE MILHO COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO..... | 57 |
| RESUMO..... | 58 |
| ABSTRACT..... | 59 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 60 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 63 |
| 2.1 Produção, colheita e secagem das sementes..... | 63 |
| 2.2 Características avaliadas | 65 |
| 2.2.1 Atividade de α -amilase | 65 |
| 2.2.2 Análise eletroforética de proteínas resistentes ao calor | 66 |
| 2.3 Delineamento experimental..... | 67 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 68 |
| 4 CONCLUSÕES | 83 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 84 |
| CAPÍTULO 4: EFEITO DE ÉPOCAS DE SEMEADURA E DE COLHEITA NA QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO | 88 |
| RESUMO..... | 89 |
| ABSTRACT..... | 90 |
| 1 INTRODUÇÃO | 91 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 94 |
| 2.1 Produção, colheita, secagem e armazenamento das sementes..... | 94 |
| 2.2 Características avaliadas | 99 |
| 2.2.1 Teor de água | 99 |

| | |
|---|------------|
| 2.2.2. Determinação da camada negra | 100 |
| 2.2.3 Teste de germinação | 100 |
| 2.2.4 Primeira contagem de germinação..... | 101 |
| 2.2.5 Teste de frio..... | 101 |
| 2.2.6 Teste de envelhecimento acelerado | 101 |
| 2.2.7 Teste de condutividade elétrica | 102 |
| 2.2.8 Emergência de plântulas em bandeja..... | 102 |
| 2.3 Análise estatística | 103 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 104 |
| 4 CONCLUSÕES | 116 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 117 |
| ANEXOS..... | 119 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ABA – ácido abscísico;

DAF – dias após florescimento;

GA₃ – ácido giberélico;

LL – linha de leite;

LEA – Late Embriogenesis Abundant;

RAS – Regras para Análise de Sementes.

RESUMO

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. **Maturação de sementes de milho: aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos**. Lavras: UFLA, 2003. 129p. Tese-Doutorado em Fitotecnia)¹.

Sementes de milho podem ser colhidas em espigas, com altos teores de água, a partir do momento em que atingem altos níveis de qualidade. No presente trabalho estudou-se a maturação de sementes de híbridos de milho, por meio da colheita em diferentes estádios “de linha de leite”, avaliando características físicas, bioquímicas e fisiológicas indicativas de qualidade. Os experimentos foram realizados no laboratório de sementes da UFLA, em parceria com a Monsanto do Brasil S.A., no período de junho de 2000 a maio de 2002. Foram utilizadas sementes dos híbridos DKB-350 e AG-9090, produzidas no outono/inverno de 2000 e primavera/verão 2000/2001 nos municípios de Iraí de Minas - MG e Guaira - SP, respectivamente e dos híbridos AG-9010 e DKB-747, produzidas no outono/inverno de 2000 nos municípios de Campo Florido-MG e Miguelópolis-SP, respectivamente. Em cada campo foram demarcados 4 faixas, onde foram colhidas 100 espigas por estágio de linha de leite (LL) que são: LL2, LL3, LL4 e LL5, contemplando, respectivamente, 25%, 50%, 75% e 100% de endosperma endurecido. As sementes recém-colhidas, após secagem em secadores experimentais até atingirem 12% de teor de água, e após armazenamento em condições de ambiente por oito meses, foram avaliadas quanto à qualidade física, fisiológica e pelas análises de padrões eletroforéticos de α -amilase e proteínas tolerantes ao calor. Determinou-se a qualidade fisiológica de sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, verificando-se também o efeito de épocas de semeadura e do armazenamento para os híbridos avaliados. Avaliou-se ainda o efeito da secagem natural e artificial na germinabilidade e tolerância à dessecação de sementes colhidas nos vários estádios de maturação, por meio de estudos de padrões de α -amilase e proteínas resistentes ao calor. Concluiu-se que sementes de milho colhidas a partir do estágio 3 de linha de leite (LL3), quando estas se encontram com 50% do endosperma sólido, são tolerantes à dessecação e se secadas a temperaturas iniciais moderadas apresentam alta qualidade fisiológica podendo ser armazenadas com segurança.

¹ Comitê Orientador: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Orientador), Prof^a. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA e Prof. Renato Mendes Guimarães –UFLA.

ABSTRACT

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. **Maturation of corn seeds: physical, biochemical and physiological aspects.** Lavras. UFLA, 2003. 129p. (Thesis - Doctorate in Crop Science).¹

Corn seeds may be harvested on ears with high water contents from the moment they reach high quality levels. In the present work, the maturation of seeds of corn hybrids was studied by means of harvest at different “milk line” stages, by evaluating physical, biochemical and physiological characteristics which indicate seed quality. The experiments were performed at UFLA Seed Laboratory in association with Monsanto do Brasil S.A., over the period of June 2000 to May 2002. Seeds of hybrids DKB-350 e AG-9090 produced in the 2000 autumn/winter and 2000/2001 spring/summer in the towns of Iraí de Minas-MG and Guaiúra-SP, respectively, and of the hybrids AG-9010 and DKB-747 produced in the 2000 autumn/winter in the town of Campo Florido-MG and Miguelópolis-SP, respectively, were utilized. In each field, 4 rows were demarcated where 100 ears per milk line (ML) stage (ML2, ML3, ML4 and ML5) were harvested containing, respectively, 25%, 50%, 75% and 100% of hardened endosperm. The freshly harvested seeds, after drying in experimental dryers till reaching 12% of water content and after storage in room conditions for eight months, were evaluated as to physical, and physiological quality and by the analyses of electrophoresis patterns of α -amylase and heat resistant protein. The physiological quality of seeds harvested at the different milk-line stages was determined. The effects of sowing time and seed storage was also verified for the those hybrids. The effects of natural and artificial drying on germinability and desiccation tolerance of seeds harvested at the several maturation stages was assessed by means of studies of α -amylase and heat resistant proteins in association with physiological parameters. We concluded that the corn seeds harvested from milk line stage 3 (ML3), when they are with 50% of their endosperm solid, are desiccation tolerant and if dried at moderate temperatures presents high physiological quality and can be stored with safe.

¹ Guidance Committee: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Major Professor), Prof^a. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA and Prof. Renato Mendes Guimarães – UFLA.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A colheita é uma etapa importante no processo de produção de sementes, pois exerce influência significativa sobre a qualidade das mesmas, devendo ser realizada no momento adequado e seguindo as recomendações técnicas para reduzir ao máximo as possíveis perdas qualitativas e quantitativas.

Para a maioria das espécies, o momento mais adequado para a colheita de sementes é o mais próximo possível do ponto de maturidade fisiológica. Esse é o estágio em que a semente atinge o seu máximo em massa seca, interrompendo a conexão nutricional com a planta-mãe. No entanto, ao alcançar a maturidade fisiológica, a semente ainda se encontra com grau de umidade relativamente elevado, inviabilizando a sua colheita mecânica em grãos.

Grande parte da colheita de sementes de milho tem sido realizada em espigas, método que possibilita a retirada das sementes do campo em estádios próximos à maturidade fisiológica, propiciando maior qualidade devido à menor exposição às condições ambientais adversas. A colheita em espigas é também vantajosa por permitir maior aproveitamento das áreas de plantio, devido à possibilidade de desocupá-las mais cedo, além de propiciar melhor planejamento de secagem, permitindo a distribuição da secagem ao longo do período de colheita. Porém, algumas investigações necessitam ser realizadas, como a determinação do momento adequado de colheita para os genótipos de interesse, por meio de métodos precisos e práticos, o que fornecerá indicativos de quando cedo as espigas poderão ser retiradas do campo sem prejuízo de suas qualidades fisiológicas.

As mudanças nas características morfológicas e fisiológicas que ocorrem durante a maturação das sementes têm sido usadas como parâmetros no desenvolvimento de métodos para identificar a maturidade, visando determinar o

ponto de colheita sem prejuízo para sua qualidade fisiológica. Para o milho, os métodos mais frequentemente utilizados são os que têm como base o teor de água das sementes e a ocorrência da camada negra. No entanto, esses métodos apresentam algumas limitações como indicadores ideais do momento de colheita (Afuakwa & Crookston, 1984).

Alguns autores têm sugerido que a “linha de leite”, camada transitória e limite entre a matriz sólida e líquida do endosperma em maturação, pode ser utilizada como método para monitorar a maturidade da semente de milho, por ser facilmente detectável a campo, sem necessidade de instrumentos (Hunter et al., 1991; Tekrony & Hunter, 1995).

A “linha de leite” é um marcador interessante para o acompanhamento do processo de maturação de sementes de milho, sendo externamente visível na face oposta ao embrião, iniciando no ápice e terminando na base da semente, seguindo a progressiva solidificação do endosperma leitoso.

No final do processo de desenvolvimento, as sementes ortodoxas, como as de milho, sofrem redução natural do teor de água, o que lhes permite entrar no estado seco quiescente, possibilitando, desta forma, seu armazenamento e sobrevivência em várias condições ambientais (Leprince et al., 1993). Essa dessecação tem um papel importante em terminar o programa de desenvolvimento e preparar a semente para eventos germinativos após reidratação. Tem sido demonstrado que essas sementes não germinam e também não apresentam síntese de enzimas essenciais à germinação, se não passarem pela secagem natural que ocorre na pós-maturação ou se não forem submetidas à secagem artificial em determinado estágio do seu desenvolvimento.

Antes da secagem natural, durante a fase de deposição de reservas, as sementes sofrem transformações que as tornam aptas a tolerar a perda de água em seus tecidos. Também à medida que perdem água lentamente adquirem

tolerância à secagem em temperaturas mais elevadas. Diversas mudanças bioquímicas ocorrem nas células das sementes para prepará-las para tolerar a perda de água de seus tecidos. Dentre estas mudanças, está a síntese de determinadas proteínas na fase final de maturação, conhecidas como “LEA” (Late Embriogenesis Abundant) proteínas (Bewley & Black, 1994), cuja detecção e acúmulo nas fases finais do desenvolvimento de sementes têm sido correlacionados com aquisição de tolerância à dessecação em várias espécies (Blackmam et al., 1991; Thomman et al., 1992).

Assim sendo, no momento da colheita, além do grau de umidade, o estágio de maturação também é importante para determinar a sensibilidade das sementes às temperaturas de secagem, e o início da aquisição de tolerância à dessecação durante a maturação indica a época mais precoce em que as sementes podem ser colhidas e submetidas à secagem artificial (Ellis et al., 1987). Portanto, a aquisição de tolerância à dessecação e metodologias para secagem precisam ser investigadas em sementes de milho, principalmente quando se pretende realizar a colheita em espigas, com altos teores de água. Uma vez que fatores ambientais influenciam o desenvolvimento e maturação de sementes, é interessante estudar o efeito de épocas de semeadura no uso dos estádios de linha de leite como marcador de maturação.

Objetivou-se, no presente trabalho, estudar a maturação de sementes de híbridos de milho por meio de colheita em diferentes estádios de “linha de leite”, em duas épocas de produção, avaliando características físicas, bioquímicas e fisiológicas das sementes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Determinação da maturidade fisiológica em sementes de milho e o efeito de épocas de produção.

O desenvolvimento da semente começa com a fertilização do óvulo e termina quando ela atinge o máximo peso seco na maturidade fisiológica. Nessa etapa, algumas características físicas e fisiológicas como tamanho, teor de água, conteúdo de matéria seca, germinação e vigor sofrem modificações, que podem ser acompanhadas, constituindo boas ferramentas para o estudo desta fase da vida da semente (Carvalho & Nakagawa, 1983; Guimarães, 1999). O estudo do desenvolvimento de sementes visa determinar o ponto no qual a semente pode ser desligada da planta mãe, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica. As mudanças nas características morfológicas e fisiológicas das sementes têm sido usadas no desenvolvimento de métodos para determinar a maturidade de sementes.

A determinação da maturidade fisiológica tem sido realizada utilizando diversos parâmetros como o teor de água, conteúdo de matéria seca, germinação, vigor, grau diário de crescimento, soma térmica, número de dias da emergência até a floração e outros (Knittle & Burris, 1976; Borba et al., 1994; Von Pinho, 1997). No entanto, alguns desses parâmetros nem sempre podem ser acompanhados no campo e a fixação de períodos de ocorrência de maturidade fisiológica em função de eventos como semeadura, emergência das plântulas e florescimento pode apresentar diferenças para uma mesma espécie e cultivar, em função das condições do meio ambiente.

Durante todo o processo de acúmulo de matéria seca, o conteúdo de água das sementes é elevado. Quando a semente atinge o máximo peso seco e para de receber fotoassimilados da planta mãe, o teor de água oscila entre 30 e 50%,

dependendo da espécie. A partir deste ponto, inicia-se um processo de desidratação mais rápido e as reações metabólicas dentro da semente vão diminuindo até o ponto em que a respiração é quase nula. Nesta condição, as sementes podem ser armazenadas por longos períodos (Guimarães, 1999).

O teor de água das sementes não é um bom indicador de maturidade em milho, embora na prática, sementes de milho, independentemente do genótipo, são consideradas fisiologicamente maduras quando o teor de água atinge 30 a 35%. Vários autores (Hallawer & Russel, 1962; Daynard & Duncan, 1969; Rench & Shaw, 1971; Daynard, 1972; Carter & Poneleit, 1973) têm demonstrado que a maturidade de sementes de milho pode ocorrer em conteúdo de água de 28 a 42%, dependendo do genótipo avaliado. Também Hunter et al. (1991) comentam que, embora a quantidade de água das sementes seja amplamente utilizada para determinar a maturidade, essa característica tem variado entre genótipos, épocas e anos de plantio.

A acumulação de matéria seca começa de forma lenta, mas em curto espaço de tempo este acúmulo passa a ser rápido e constante até atingir um máximo. O máximo de matéria seca tem sido mencionado como o indicador mais seguro da maturidade fisiológica da semente. Por ser de difícil determinação e acompanhamento na lavoura, o máximo peso seco não tem sido utilizado na prática para monitorar a maturidade fisiológica de sementes de híbridos e linhagens de milho.

Daynard & Duncan (1969) propuseram o uso do desenvolvimento da camada negra como uma maneira de determinar a maturidade fisiológica das sementes de milho. Segundo esses autores, a camada negra ou de “fechamento” é formada a partir de células da base do endosperma e da área vascular do pedicelo na semente em desenvolvimento. Quando a maturidade fisiológica se aproxima, essas células se comprimem em uma densa camada que aparece preta

a olho nu. Ao mesmo tempo, as células de condução da base do endosperma se desorganizam e são esmagadas de modo que sua função de translocação provavelmente termina. Esses autores observaram que o início da ocorrência visual do desenvolvimento da camada negra foi altamente correlacionado com as datas preditas de máximo peso seco e que o ponto final de enchimento de grãos pode ser determinado com este parâmetro.

Hunter et al. (1991) modificaram o sistema de Rench & Shaw (1971) propondo os seguintes estádios de desenvolvimento da camada negra: 1: não aparece pigmentação do endosperma basal ou tecido adjacente à região pedicelo-placenta, o tecido tem uma aparência translúcida; 2: a região entre o embrião e a placenta-pedicelo está se tornando marrom, com ocorrência de bandas ou zonas escuras; 3: o tecido entre a base do embrião e a região pedicelo-placenta é mais fino e escuro que o estágio 2; 4: uma fina banda marrom escuro avança através de toda a base do grão, entre a junção do endosperma basal e o tecido do embrião; 5: o desenvolvimento da camada negra está completo e uma fina camada negra estende através de toda a base do grão.

O processo de maturação pode ser influenciado por estresses ambientais como seca, dano por frio e doença. Muitos desses estresses reduzem a capacidade da planta de produzir assimilados para as sementes, ocorrendo redução no período de enchimento dos grãos e peso seco dos mesmos, e precocidade no desenvolvimento da camada negra em sementes (Hunter et al., 1991). Daynard (1972) reportou desenvolvimento diferenciado da camada negra para os mesmos híbridos de milho cultivados em épocas diferentes. Quando foram cultivados em época de temperaturas amenas, o autor observou que a camada negra apareceu com teores de água entre 30 e 37%, já para o plantio em época de temperaturas mais baixas, encontrou o desenvolvimento da camada negra em sementes com grau de umidade entre 39 a 42% . Alguns autores relataram a ocorrência de problemas associados ao uso da camada negra para

assegurar a maturidade fisiológica, tais como a imprecisão quanto ao momento de ocorrência, sendo reportada em teores de água de 15,4 a 75% (Carter & Poneleit, 1973; Afuakwa & Crookston, 1984; Afuakwa et al., 1984).

Aldrich (1943) foi o primeiro a sugerir a utilização da linha de leite como método de monitorar a maturação de sementes de milho. A linha de leite é uma camada transitória ou limite entre a matriz sólida e líquida do endosperma em maturação. Os estágios de desenvolvimento de sementes de milho são acompanhados pela progressiva solidificação do endosperma leitoso, começando no ápice e terminando na base da semente.

Hunter et al. (1991) propuseram os seguintes estágios de desenvolvimento da linha de leite: 1: o endosperma está inteiramente líquido, nenhuma linha de leite é visível; 2: 25% do comprimento da semente está preenchido com endosperma solidificado, a linha de leite está localizada no quarto superior do comprimento da semente; 3: 50% do endosperma sólido, linha de leite localizada no meio da semente; 4: 75% do comprimento da semente com endosperma solidificado, a linha de leite está localizada no quarto inferior da semente; 5: endosperma completamente sólido, a linha de leite está ausente.

Usando esse sistema de estádios para formação da linha de leite, vários pesquisadores têm identificado o ponto de maturidade fisiológica e a época ideal de colheita de sementes de milho (Afuakwa & Crookston, 1984; Hunter et al., 1991; Vieira et al., 1995; Tekrony & Hunter, 1995).

Afuakwa & Crookston (1984) sugeriram que a maturidade de sementes pode ser determinada pela localização da linha de leite na face abgerminal da semente e reportou que aproximadamente 95% do máximo peso seco foi acumulado quando a linha de leite alcançou o meio da semente. Os autores enumeram cinco razões pelas quais o monitoramento da linha de leite pode ser

um meio útil de estimar a maturidade: o desaparecimento de todo o leite representa a solidificação do grão e a translocação de sacarose líquida não ocorre mais para a matriz sólida; a linha de leite é visivelmente detectável; ao contrário da camada negra, cujo aparecimento indica o final da maturação, o movimento da linha de leite pode ser acompanhado durante o desenvolvimento da semente; não são necessários instrumentos para determinar o estado da linha de leite e não são necessários registros para determinar o estado da linha de leite.

O acompanhamento da linha de leite pode ser combinado com o método da camada negra para determinar a maturidade fisiológica em sementes de milho. Hunter et al. (1991) após estudarem diferentes indicadores de maturidade fisiológica de sementes de milho e utilizando carbono-14 como marcador, verificaram que a maturidade fisiológica ocorre quando 75% do comprimento das sementes continha endosperma solidificado e a linha de leite estava presente junto à base da semente, juntamente com o aparecimento da camada negra, coincidindo com o estágio 4 para ambas. Observaram também que a ocorrência desses dois parâmetros juntos representa um prático e real indicador da maturidade fisiológica das sementes.

Vieira et al. (1995) estudaram a relação entre o desenvolvimento da camada negra e da linha de leite para dois genótipos, CX 133 e IAC 100, em dois anos agrícolas. Verificaram que a maturidade fisiológica foi alcançada antes do estágio 4 de desenvolvimento tanto da camada negra como da linha de leite, concluindo que, no campo, a linha de leite foi o melhor indicador, sendo mais viável para identificação dos diferentes estádios.

O vigor de uma semente, durante a maturação, é uma característica que acompanha na mesma proporção o acúmulo de matéria seca. Assim, em geral, uma semente atinge seu máximo vigor quando apresenta o seu máximo peso de matéria seca. Knittle & Burris (1976), investigando a maturidade fisiológica de

sementes de milho, encontraram que os maiores valores de vigor associados à maturidade das sementes foram específicos para cada híbrido e que o máximo peso seco das raízes e plúmulas foi correlacionado com o máximo peso seco das sementes, ocorrendo, no final do desenvolvimento da camada negra, com o teor de água das sementes variando de 33 a 37,3%.

Por meio de investigações que relacionam a qualidade de sementes de milho com a maturidade, tem sido mostrado que o máximo vigor e germinação das sementes ocorrem com altos teores de água, antes que a semente tenha alcançado a maturidade fisiológica, baseada no acúmulo de matéria seca. (Knittle & Burris, 1976; Borba et al., 1994; Tekrony & Hunter, 1995). Pelos resultados obtidos por Knittle & Burris (1976), sementes de milho colhidas antes da maturidade fisiológica poderiam ser tão vigorosas quanto as colhidas na maturidade ou após esta. Fagioli et al. (1999) também constataram que a partir do estágio 3 da linha de leite, as sementes de milho apresentaram-se com alta qualidade fisiológica em diferentes genótipos estudados. Resultados semelhantes foram encontrados por Ajayi & Fakorede (2000), segundo os quais, sementes colhidas antes da maturidade completa, independentemente do peso seco, germinaram mais rápido que aquelas colhidas na maturidade completa.

Borba et al. (1994), trabalhando com sementes de milho híbrido simples BR201 fêmea, cultivado no verão, observaram que a maturidade fisiológica das sementes, com base no acúmulo de matéria seca, ocorreu aos 65 dias após a floração. Para a obtenção de sementes de alta qualidade, a colheita poderia ser iniciada a partir do 55º dia após a floração, quando as sementes apresentavam cerca de 87% de germinação e 82% de vigor avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado, com 95% das sementes apresentando camada negra. Nos mesmos experimentos, porém realizados no inverno (Borba et al., 1995), a maturidade fisiológica ocorreu aos 58 dias após a floração.

Altos níveis de germinação e vigor podem ser encontrados antes da maturidade fisiológica em certos genótipos. Desta forma, o acompanhamento da maturação por meio de indicadores precisos pode indicar quão cedo as sementes de milho em espigas poderão ser retiradas do campo sem prejuízo de suas qualidades fisiológicas.

2.2 Desenvolvimento de sementes e aquisição de germinabilidade e tolerância à dessecação

Durante o desenvolvimento de sementes, três estádios gerais são reconhecidos. O primeiro estágio é a histodiferenciação que começa com a fertilização e é caracterizado por divisões celulares, ocorrendo a formação do eixo embrionário e dos tecidos de reserva. O segundo estágio é o de maturação, fase em que ocorre expansão das sementes devido à acumulação maciça de material de reserva. O terceiro e último estágio é chamado de secagem de maturação e é caracterizado por suspensão da deposição de reservas seguida de perda de água ou dessecação natural, a qual conduz a semente ao estado quiescente ou dormente (Kermode et al., 1986; Leprince, 1993).

A ocorrência e extensão desta secagem varia entre espécies, porém mais de 90% da água original pode ser removida. Como consequência, o embrião da semente entra em um estado de quiescência, em que o metabolismo é reduzido ou não mensurável até que condições favoráveis reativem o metabolismo e induzam a germinação. Antes que as sementes sofram esta severa perda de água, elas adquirem a habilidade para resistir a essa dessecação. Segundo Kermode & Bewley (1989), muitas sementes passam da fase de intolerância para tolerância à dessecação aproximadamente no meio do processo de desenvolvimento, durante ou coincidindo com a deposição de reservas.

A dessecação é considerada necessária para a conclusão do ciclo de vida em sementes ortodoxas. É geralmente interpretada como uma adaptação estratégica para tornar a semente apta à sobrevivência durante o armazenamento, para garantir melhor disseminação das espécies e para prover tolerância às severas condições ambientais (Kermode & Bewley, 1989; Vertucci & Farrant, 1995). Na maioria das sementes, o período de dessecação é naturalmente interpolado entre desenvolvimento e germinação, e é lógico supor que esta perda de água tem uma função na mudança das atividades celulares, passando de um programa de desenvolvimento para um programa orientado para germinação e crescimento (Kermode, 1995; Sanhewe & Ellis, 1996; Burris et al., 1997).

Por meio de diversos estudos, sementes têm sido submetidas à dessecação prematura, ou seja, são retiradas da planta mãe antes do seu desenvolvimento normal ser completado e submetidas a um período de secagem artificial. Tem-se verificado que a imposição de uma dessecação prematura causa o término dos eventos de desenvolvimento e conduz, sob subsequente reidratação, a um programa metabólico associado exclusivamente com germinação e crescimento (Kermode et al., 1986).

A secagem é importante para a aquisição de germinabilidade e as sementes passam de intolerantes a tolerantes à secagem em um tempo particular do curso de seu desenvolvimento. Sementes de feijão, por exemplo, não germinarão se removidas frescas da vagem e colocadas para germinar, antes de 40 dias de desenvolvimento. Sementes com 26 a 32 dias de desenvolvimento podem ser induzidas a germinar se secas em sílica gel, mas com 22 dias não germinam e se deterioram, pois não recuperam sua total integridade metabólica em seguida ao tratamento de secagem. Em determinados estádios do desenvolvimento, as sementes adquirem tolerância à perda de água e são induzidas a germinar por meio de secagem (Dasgupta & Bewley, 1982).

De modo semelhante para sementes de mamona, a germinabilidade não é alcançada até 50-55 dias de desenvolvimento, enquanto a secagem prematura promove a germinação de sementes aos 25 dias (Kermode & Bewley, 1985). A tolerância à dessecação inicia-se em embriões de trigo ainda na planta-mãe, aos 22 a 24 dias após antese, no momento em que o conteúdo de água do embrião decresce de 73% para 65% .

Em relação à secagem e germinabilidade, observou-se que sementes de feijão (Dasgupta et al., 1982) e mamona (Greenwood, 1982) não germinaram quando coletadas do fruto em vários estádios e não submetidas à secagem, e somente germinaram após alcançarem o máximo peso seco, que ocorreu subsequente ao começo da perda de água natural. A germinação total não foi encontrada até as sementes dessas espécies terem quase completado a fase de dessecação natural.

Trabalhando com milho, Bochichio et al. (1988) secaram embriões prematuros e, por meio desse trabalho, revelaram que a tolerância à dessecação em sementes é adquirida entre 20 e 25 dias após polinização. Verificaram que nesse período, a porcentagem de germinação aumentou de 0 para 60-100% nos genótipos avaliados, concluindo que embriões de milho se comportam como os de outras espécies, adquirindo tolerância à dessecação semanas antes da maturidade das sementes.

Utilizando sementes inteiras de milho, Brenac et al. (1997) obtiveram germinação com secagem rápida aos 30 a 36 dias após polinização (dap) e, sem secagem artificial, somente aos 86 dap. Para sementes de soja, Sun & Leopold (1993) concluíram que a aquisição de tolerância à dessecação durante o desenvolvimento é um processo gradual e continua após a maturidade fisiológica (48 dap). Embora os embriões frescos de sementes de soja tivessem conseguido completa capacidade para germinar aos 34 dap, a habilidade para resistirem à

rápida dessecação somente foi conseguida aos 55 dap, quando mais de 90% dos embriões germinaram após serem desidratados a 8% de teor de água.

Em sementes de mamona, a tolerância à dessecação é obtida já no início do desenvolvimento, ocorrendo bem antes da deposição de reservas da semente ser completada. Aos 25 dias de desenvolvimento, o primeiro estágio com tolerância à dessecação, sementes dessa espécie alcançaram somente 20% do máximo peso seco obtido durante o desenvolvimento. Mesmo aos 30 dias de desenvolvimento, estágio no qual a germinação pode ocorrer após secagem, a semente alcançou somente 40% do máximo peso seco. Assim, a semente adquire a capacidade para germinar que pode ser expressa seguindo a secagem prematura, mesmo que os principais eventos de desenvolvimento, tais como deposição de reservas, estejam longe de ser completados (Dasgupta & Bewley, 1982).

A dessecação prematura de sementes durante o seu estágio tolerante de desenvolvimento também suprime eventos metabólicos que são exclusivamente de desenvolvimento em condições naturais e induz aqueles que são relacionados com germinação. Dessecação prematura de sementes de mamona, aos 25 dias após a fecundação, provocou um redirecionamento da síntese de proteínas, suprimindo a síntese associada ao desenvolvimento e estimulando a síntese de proteínas associadas à germinação (Kermode & Bewley, 1985). Normalmente, o final do processo de maturação para essa espécie ocorre aos 60 dias após a fecundação.

A fase de maturação é caracterizada pelo acúmulo de produtos de reserva, preparação para a dessecação e para a germinação. Entretanto, a maturação não é um processo obrigatório. Se removidos da planta-mãe e colocados em meio de cultura, embriões de muitas espécies germinam e se desenvolvem em plântulas normais. O fitohormônio ácido abscísico (ABA) tem

um papel central na maturação do embrião, tanto para evitar a germinação precoce como para induzir a expressão de genes associados à maturação, direcionando o metabolismo para o acúmulo de produtos e aquisição de tolerância à dessecação (Bewley & Black, 1994). Segundo White et al. (2000), mutantes deficientes em síntese de ABA são vivíparos, ou seja, não se tornam quiescentes, germinando precocemente na espiga no meio do curso do desenvolvimento. Os autores sugerem que o papel do ABA é atuar antagonicamente a um sinal positivo de ácido giberélico (GA_3) para a germinação, em sementes de milho.

A dessecação é um evento terminal normal no desenvolvimento de muitas sementes e pode, por si mesma, promover a perda de controle pela planta-mãe ou tecidos circundantes ao embrião, afetando o fluxo de substâncias supressoras da germinação para o embrião, como, por exemplo, ácido abscísico (ABA), ou pela alteração da sensibilidade do embrião a substâncias promotoras e supressivas. De acordo com Bewley & Black (1994), a secagem superaria os obstáculos impostos ao embrião pelas estruturas circundantes ou por fatores hormonais.

Quando imposta prematuramente em sementes em desenvolvimento, a secagem torna a camada de aleurona de trigo e cevada responsiva a ácido giberélico (GA_3) e produz α -amilase, uma enzima hidrolizante de amido, que é a proteína predominantemente sintetizada por este tecido em sementes de cereais. Durante o desenvolvimento, a camada de aleurona serve como tecido de reserva, enquanto, na germinação, sua função é sintetizar enzimas para a mobilização de reservas (Fincher, 1989). A produção de α -amilase pela camada de aleurona de sementes de cereais normalmente não ocorre em resposta ao ácido giberélico (GA_3), a não ser que a semente entre na fase de secagem pós-maturação ou seja submetida à secagem artificial, em estádios mais precoces do seu desenvolvimento (Armstrong et al., 1982).

Bewley & Black (1994) apresentaram um trabalho em que se concluiu que a expressão de genes de α -amilase na camada de aleurona de cevada em resposta ao GA_3 é regulada pela secagem. Nesse trabalho, a transcrição para produzir mRNA's para a enzima foi evidente na camada de aleurona de sementes maduras secas, incubadas por 48 horas na presença de GA_3 ; porém nenhuma mensagem para amilase ocorreu na ausência desse regulador de crescimento. Camadas de aleurona removidas de sementes imaturas, que não foram secas, não produziram transcritos para α -amilase, mesmo em resposta a GA_3 , enquanto aquelas que foram secadas mostraram uma forte resposta positiva.

Segundo a maioria dos autores (Bilderback, 1971; Evans et al., 1975; Armstrong et al., 1982), a secagem reduz o conteúdo de ácido abscísico endógeno e confere à camada de aleurona sensibilidade ao GA_3 . Em sementes de trigo, a sensibilidade da camada de aleurona ao hormônio GA_3 não é obtida antes que ocorra a secagem das sementes até um nível de 25% de teor de água (Armstrong et al., 1982).

Oishi & Bewley (1990) compararam a resposta de sementes de milho à secagem prematura e à aplicação de fluridone, um inibidor da síntese de ácido abscísico. Os autores concluíram que fluridone e secagem causaram o decréscimo no conteúdo de ácido abscísico nas sementes, mas o declínio deste hormônio, embora permita a germinação, sozinho não é suficiente para permitir o aumento da atividade enzimática, necessária ao crescimento do embrião. Portanto, a secagem é necessária para sensibilizar a camada de aleurona ao ácido giberélico e, então, ativar a síntese de α -amilase. E, para que a camada de aleurona obtenha seu completo potencial para produzir as enzimas necessárias ao crescimento do embrião, ela deve estar livre dos efeitos inibidores do ácido abscísico e estar sensível para responder ao ácido giberélico. O tratamento de secagem imposto prematuramente ou como ocorre nas fases finais do

desenvolvimento de sementes de milho, age como um sinal para o estímulo à síntese de α -amilase.

De acordo com os trabalhos constantes na literatura, a secagem natural ou imposta durante o desenvolvimento atua como um sinal para que ocorra a germinação de sementes, induzindo a síntese de enzimas e proteínas necessárias. Isso só é possível após a aquisição de tolerância à dessecação que pode ocorrer em estádios precoces do desenvolvimento.

2.3 Tolerância à dessecação e proteínas “LEA”

Durante o desenvolvimento, antes da perda de água que ocorre no final da maturação, as sementes ortodoxas desenvolvem mecanismos para prevenir os danos provenientes da remoção de água de seus tecidos. Esta aquisição de tolerância à dessecação confere capacidade às sementes de germinarem após secagem e subsequente reidratação.

A tolerância é adquirida no estágio de acumulação de reservas ou poucos dias antes, dependendo da espécie, e envolve mudanças estruturais e bioquímicas nas células, tais como a substituição de grandes vacúolos por plastídeos com substâncias de reserva, a acumulação de di e oligossacarídeos e a síntese de desidrinas (Golovina et al., 2001). Todas essas mudanças ocorrem durante a maturação, normalmente quando a morfogênese é completada, e previnem danos letais em diferentes componentes celulares, incluindo membranas, proteínas e citoplasma (Black et al., 1999).

Em uma revisão sobre os mecanismos de tolerância à dessecação em sementes em desenvolvimento, Leprince et al. (1993) definiram três principais mecanismos: 1) a acumulação de açúcares não reduzidos, os quais estabilizam membranas e proteínas em condições secas e promovem a formação de uma fase

vítrea no citoplasma; 2) a habilidade para tolerar ou reparar um ataque de radicais livres durante a dessecação e 3) acúmulo de proteínas LEA (Late Embriogenesis Abundant) que têm função protetora e são induzidas por ácido abscísico (ABA).

A síntese de um conjunto de proteínas específicas está associada à aquisição da tolerância à dessecação durante o desenvolvimento de sementes. Existem classes de mRNA's que são produzidos no final da maturação e durante a dessecação. Incluindo entre estes, estão os abundantes mRNA's que codificam um grupo de proteínas hidrofílicas: as proteínas LEA (Late Embriogenesis Abundant) (Hoekstra et al., 2001). Primeiramente detectadas em algodão, onde a síntese de proteínas LEA constitui acima de 25% da proporção da atividade traducional do embrião na fase tardia da maturação, desde sua descrição, mensagens homólogas a cDNA de LEA de algodão, representando pelo menos cinco famílias conservadas de proteínas correspondentes, têm sido encontradas em embriões secos maduros de diversas espécies (Galau et al., 1991; Bewley & Black, 1994; Kermode, 1995; Walters et al., 1997).

Geralmente os mRNAs que codificam LEA proteínas são detectados em embriões por volta do meio do desenvolvimento, e o mais alto nível de expressão ocorre durante a secagem de maturação. Os RNAs mensageiros são preservados na semente seca, mas são rapidamente degradados sob embebição. O aparecimento precoce dessas proteínas e seus mRNAs pode ser induzido em embriões imaturos por ABA exógeno em meio de cultura (Kermode, 1997). Assim sendo, acredita-se que o alto nível de ABA durante a fase mediana de desenvolvimento induz o acúmulo desses polipeptídeos e, então, prepara o embrião para dessecação ou possível rompimento celular sob reidratação subsequente (White et al., 2000).

O padrão de acúmulo de algumas classes de mRNA's de LEA, durante o desenvolvimento de sementes, sua ocorrência abundante e sequências altamente conservadas, bem como suas características físicas de hidrofiliicidade e resistência à desnaturação, sugerem que os polipeptídeos de LEA apresentam uma função importante na tolerância à dessecação, a qual, segundo Bewley & Black (1994), se deve à sua habilidade para atrair moléculas de água ou, de alguma forma, substituir a água. Em endospermas de mamona (*Ricinus communis* L.), transcritos de LEA foram detectados em duas fases: inicialmente durante o meio do tempo de desenvolvimento, ou seja, aos 30-35 dias após polinização (DAP); e aos 50 DAP, quando foram detectados em maior quantidade, exatamente antes do início da dessecação (Han et al., 1997).

Uma das características que distinguem as proteínas LEA é a sua alta solubilidade em água e estabilidade mesmo na ebulição. Essa característica é atribuída à sua grande proporção de aminoácidos hidrofílicos, particularmente glutamina e glicina (Walters et al., 1997). A sua natureza hidrofílica ajuda a tirar conclusões sobre suas funções, as quais incluem formação de pontes de água, ajustamento osmótico e substituição de água. Algumas das LEA proteínas são sugeridas atuar como agentes protetores de componentes celulares como membranas e outras proteínas, possivelmente pela sua habilidade de formar espirais amorfas, protegendo-as contra danos de rompimento na ausência de água (Kermode, 1997; Black et al., 1999). Proteínas estáveis ao calor são abundantes em embriões maduros de cereais, perfazendo 60% das proteínas solúveis da camada de aleurona (Walters et al., 1997).

Diversos grupos de genes produtores de LEA têm sido detectados e caracterizados em um grande número de espécies. Têm sido classificadas em três diferentes grupos, de acordo com a sequência proteica apresentada (Thomman et al., 1992; Robertson & Chandler, 1992; Wolkers et al., 2001). Um grupo de proteínas, incluindo a família D11 e alguns chamados RAB,

responsivas a ABA, caracterizadas por serem robustas e hidrofílicas, são acumuladas durante os estádios mais tardios do desenvolvimento e podem ser induzidas por uma dessecação prematura ou por tratamentos que afetam o conteúdo de água da célula (Baker et al., 1988; Blackman et al., 1991; Blackman et al., 1992; Galau et al., 1991; Robertson & Chandler, 1992). Em sementes ortodoxas, elas têm sido estudadas genericamente como proteínas estáveis ao calor, ou mais especificamente como classe II de LEA's, as desidrinas (Gee et al., 1994).

Um modelo corrente proposto para ação das desidrinas é o de que a hidratação de regiões hidrofílicas resultam na formação de um envelope de água que inibe a desnaturação proteica (Kermode, 1997). Com base no alto número de resíduos polares dentro da sua estrutura, algumas LEA podem cobrir macromoléculas intracelulares com uma camada de água coesa. Este mecanismo pode ser interpretado como um modo de hidratação preferencial. Na desidratação ulterior, LEA's forneceriam uma camada de seus próprios resíduos hidroxilados, para interagir com a superfície de outras proteínas, agindo como um substituto da água (Hoekstra et al., 2001).

A identificação de proteínas LEA's é realizada mediante um protocolo no qual a purificação é conseguida por tratamento com altas temperaturas, o que facilita a precipitação das proteínas hidrofóbicas. Russouv et al. (1997), utilizando embriões de ervilha, concluíram que a proteína extraída por tratamento com temperatura de 80° C por 10 minutos era uma LEA proteína do grupo 1 e que sua conformação não foi afetada pela exposição à alta temperatura.

Blackman et al. (1991), estudando a tolerância à dessecação em sementes de soja em desenvolvimento, encontraram alta correlação entre níveis de proteínas LEA, também chamadas proteínas de maturação pelos autores, e

tolerância à dessecação tanto em sementes em desenvolvimento como em sementes germinando, sendo que esses níveis aumentaram aos 44 dias após florescimento, momento em que a tolerância à dessecação foi adquirida, e decresceram às 18 horas de embebição, quando a tolerância à dessecação foi perdida. Verificaram também que à medida que proteínas LEA se acumulavam nas sementes, ocorria diminuição na lixiviação de solutos após secagem. Eles concluíram que proteínas de maturação podem contribuir para a tolerância à dessecação de sementes de soja, embora sozinhas elas podem não ser suficientes para induzir tolerância.

Thommann et al. (1992) descreveram uma família de proteínas de milho do grupo 3 de LEA's, induzíveis por ABA e que foram acumuladas em embriões de milho durante a lenta secagem, em fase correspondente à aquisição de tolerância à dessecação. Walters et al. (1997), determinando as características de hidratação e potencial hídrico no qual proteínas LEA de trigo são expressas, encontraram que essas proteínas atuam para controlar a secagem de modo que as células permaneçam em um potencial hídrico crítico, $\Psi \leq -5\text{Mpa}$, por um tempo determinado, no qual atuariam como tampão de hidratação.

Grandes evidências existem de que diversas LEA's, incluindo desidrinas, acumulam durante a secagem de maturação, mas seu papel ainda é pouco esclarecido (Black et al., 1999). Tem sido sugerido que LEA's sozinhas não conferem tolerância à dessecação, mas interagem com outros protetores tais como oligossacarídeos. Acredita-se que a tolerância à dessecação não pode ser atribuída a um simples mecanismo de proteção; ao contrário ela parece ser um fenômeno multifatorial em que cada componente é igualmente crítico, agindo em sinergismo e controlado em nível genético (Leprince et al., 1993).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFUAKWA, J. J.; CROOKSTON, R. K. Using the kernel milk line to visually monitor grain maturity in maize. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 4, p. 687-691, July/Aug. 1984.

AFUAKWA, J. J.; CROOKSTON, R. K.; JONES, R. J. Effect of temperature and sucrose availability on black layer formation in maize. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 2, p. 285-288, Mar./Apr. 1984.

AJAYI, S. A.; FAKOREDE, M. A. B. Physiological maturity effects on seed quality, seedling vigour and mature plant characteristics of maize in a tropical environment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 2, p. 301-319, 2000.

ALDRICH, S. Maturity measurements in corn and an indication that grain development continues after premature cutting. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 35, n. 8, p. 667-680, Aug. 1943.

ARMSTRONG, C.; BLACK, M.; CHAPMAN, J. M.; NORMAN, H. E.; ANGOLD, R. The induction of sensitivity to gibberellin in aleurone tissue of developing wheat grains. I. The effect of dehydration. **Planta**, Berlin, v. 154, n. 6, p. 573-577, 1982.

BAKER, J.; STEELE, C.; DURS, L. Sequence and characterization of 6 Lea proteins and their genes from cotton. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 11, n. 3, p. 277-291, 1988.

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

BILDERBACK, D. E. Amylases in developing barley seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 48, n. 3, p. 331-334, Sept. 1971.

BLACK, M.; CORBINEAU, F.; GEE, H.; CÔME, D. Water content, raffinose, and dehydrins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. **Plant Physiology, Rockville**, v. 120, n. 2, p. 463-471, June 1999.

BLACKMAN, S. A.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins and sugar in desiccation tolerance in developing seeds. **Plant Physiology, Rockville**, v. 100, n. 1, p. 225-230, Sept. 1992.

BLACKMAN, S. A.; WETTLAUER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology, Rockville**, v. 96, n. 3, p. 868-874, July 1991.

BOCHICCHIO A.; VAZZANA, C.; RASCHI, A.; BARTELS, D.; SALAMINI, F. Effect of desiccation on isolated embryos of maize. Onset of desiccation tolerance during development. **Agronomie, Paris**, v. 8, n. 1, p. 29-36, 1988.

BOCHICCHIO A.; VERNIERI, P.; PULIGA, S.; BALDUCCI, F.; VAZZANA, C. Acquisition of desiccation tolerance by isolated maize embryos exposed to different conditions: the questionable role of endogenous abscisic acid. **Physiologia-Plantarum, Copenhagen**, v. 91, n. 4, p. 615-622, Aug. 1994.

BORBA, C. B.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.) produzidas no inverno. **Revista Brasileira de Sementes, Brasília**, v. 17, n. 1, p. 129-132, 1995.

BORBA, C. B.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T.; OLIVEIRA, A. C. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes, Brasília**, v. 16, n. 1, p. 63-67, 1994.

BRENAC, P.; HORBOWICZ, M.; DOWNER, S. M.; DICKERMAN, A. M.; SMITH, M. E.; OBENDORF, R. L. Raffinose accumulation related to desiccation tolerance during maize (*Zea mays* L.) seed developing and maturation. **Journal of Plant Physiology, Jena**, v. 150, n. 4, p. 481-488, Mar. 1997.

- BURRIS, J. S.; PETERSON, J. M.; PERDOMO, A. J.; FENG, D. S. Morphological and physiological changes associated with desiccation in maize embryos. In: ELLIS, R. H.; BLACK, M.; MURDOCH, A. J.; HONG, T. D. **Basic and applied aspects of seed biology**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997. p. 103-111.
- CARTER, M. W.; PONELEIT, C. G. Black layer maturity and filling period among inbred lines of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 3, p. 436-476, May/June 1973.
- CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes, ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 429 p.
- DASGUPTA, J.; BEWLEY, J. D. Desiccation of axes of *Phaseolus vulgaris* during development causes a switch from a developmental pattern of protein synthesis to a germination pattern. **Plant Physiology**, Rockville, v. 70, n. 4, p. 1224-1227, Oct. 1982.
- DASGUPTA, J.; BEWLEY, J. D.; YEUNG, E. C. Desiccation-tolerant and desiccation-intolerant stages during the development and germination of *Phaseolus vulgaris* seeds. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 33, n. 136, p. 1045-1057, 1982.
- DAYNARD, T. B. Relationships among black layer formation, grain moisture percentage, and heat unit accumulation in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 64, n. 6, p. 716-719, Dec. 1972.
- DAYNARD, T. B.; DUNCAN, W. G. The black layer and grain maturity in corn. **Crop Science**, Madison, v. 9, n. 4, p. 473-476, July/Aug. 1969.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. The development of desiccation-tolerance and maximum seed quality during seed maturation in six grain legumes. **Annals of Botany**, New York, v. 59, n. 1, p. 23-29, Jan. 1987.
- EVANS, M.; BLACK, M.; CHAPMAN, J. M. Induction of hormone sensitivity by dehydration is one positive role for drying in cereal seed. **Nature**, London, v. 258, n. 5531, p. 144-145, Nov. 1975.

FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; CASAGRANDE, J. R. R. Efeito de genótipos e dos estádios de maturação na qualidade de sementes de milho. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 9, n. 1/2, p. 32, jul./ago. 1999.

FINCHER, G. B. Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. **Annual Review Plant Physiology Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 305-346, 1989.

GALAU, G. A.; JAKOBSEN, K. S.; HUGHES, D. W. The controls of late dicot embryogenesis and early germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, n. 2, p. 280-288, Feb. 1991.

GEE, O. H.; PROBERT, R. J.; COOMBER, S. A. "Dehydrin-like" proteins and desiccation tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 2, p. 135-141, June 1994.

GOLOVINA, E. A.; HOEKSTRA, F. A.; VANAELST, A. C. The competence to acquire cellular desiccation tolerance is independent of seed morphological development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 358, p. 1015-1027, May 2001.

GREENWOOD, J. S.; BEWLEY, J. D. Seed development in *Ricinus communis* (castor bean). I description and morphology. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 60, n. 9, p. 1751-1760, Sept. 1982.

GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1999. 132 p. (Curso de Especialização Pós-Graduação "Lato Sensu" por Tutoria à Distância).

HALLAUER, A. R.; RUSSELL, W. A. Estimates of maturity and its inheritance in maize. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 4, p. 289-294, July/Aug. 1962.

HAN, B.; HUGHES, W. D.; GALAU, G. A.; BEWLEY, J. D.; KERMODE, A. R. Changes in late-embryogenesis-abundant (LEA) messenger RNAs and dehydrins during maturation and premature drying of *Ricinus communis* L. seeds. **Planta**, Berlin, v. 201, n. 1, p. 27-35, Jan. 1997.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 6, n. 9, p. 431-438, Sept. 2001.

HUNTER, J. L.; TEKRONY, D. M.; MILES, D. F.; EGLI, D. B. Corn seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilate. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 5, p. 1309-1313, Sept./Oct. 1991.

KERMODE, A. R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 75-95, June 1997.

KERMODE, A. R. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: KIGEL, J. L.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 273-332.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D. Development seeds of *Ricinus communis* L. when detached and maintained in a atmosphere of high relative humidity, switch to a germinative mode without the requirement for complete desiccation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, n. 3, p. 702-707, Sept. 1989.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D. The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. I. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 36, n. 173, p. 1906-1915, Dec. 1985.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D.; DASGUPTA, J.; MISRA, S. The transition from seed development to germination : a key role for desiccation? **Hort Science**, Alexandria, v. 21, p. 1113-1118, 1986. (Special supplement).

KNITTLE, K. H.; BURRIS, J. S. Effect of kernel maturation on subsequent seedling vigor in maize. **Crop Science**, Madison v. 16, n. 6, p. 851-854, Nov./Dec. 1976.

LEPRINCE, O.; HENDRY, G. A. F.; McKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 231-246, Sept. 1993.

OISHI, M. Y.; BEWLEY, J. D. Distinction between the responses of developing maize kernels to fluridone and desiccation in relation to germinability, α -amylase activity, and abscisic acid content. **Plant Physiology**, Rockville, v. 94, n. 2, p. 592-598, Oct. 1990.

RENCH, W. F.; SHAW, R. H. Black layer development in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 63, n. 2, p. 303-305, Mar./Apr. 1971.

ROBERTON, M.; CHANDLER, P. M. Pea dehydrins: identification, characterisation and expression. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 19, n. 6, p. 1031-1044, Sept. 1992.

RUSSOUW, P. S.; FARRANT, J.; BRANDT, W.; LINDSEY, G. G. The most prevalent protein in a heat-treated extract of pea (*Pisum sativum*) embryos is a LEA group I protein: its conformation is not affected by exposure to high temperature. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 117-123, June 1997.

SANHEWE, A. J.; ELLIS, R. H. Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris*. I. Ability to Germinate and to tolerate desiccation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, n. 300. p. 949-958, July 1996.

SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. Aquisition of desiccation tolerance in soybeans. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 87, n. 3, p. 403-409, Mar. 1993.

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 857-862, May/June 1995.

THOMANN, E. B.; SOLLINGER, J.; WHITE, C.; RIVIN, C. J. Accumulation of group3 late embryogenesis abundant proteins in *Zea mays* embryos. Roles of abscisic acid and the viviparous-1 gene product. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, n. 2, p. 607-614, June 1992.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Aquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J. L.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VIEIRA, R. D.; MINOHARA, L.; CARVALHO, N. M.; BERGAMASCHI, M. C. M. Relationship of black layer and milk line development on maize seed maturity. **Siencia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 142-147, Jan./Apr. 1995.

VON PINHO, E. V. de R. **Tecnologia e produção de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. 75 p. (Curso de Especialização Pós-Graduação “Latu Sensu” por Tutoria à Distância).

WALTERS, C.; RIED, J. L.; SIMMONS, M. K. W. Heat-soluble proteins extractes from wheat embryos have tightly bound sugars and unusual hydration properties. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 125-134, June 1997.

WHITE, C. N.; PROEBSTING, W. M.; HEDDEN, P.; RIVIN, C. J. Gibberellins and seed development in maize. I. Evidence that gibberellin/abscisic acid balance governs germination versus maturation pathways. **Plant Physiology**, Rockville, v. 1222, n. 4, p. 1081-1088, Apr. 2000.

WOLKERS, W. F.; McCREADY, S.; BRANDT, W.; LINDSEY, G. G.; HOEKSTRA, F. A. Isolation and characterization of a D-7 LEA protein from pollen that stabilizes glasses in vitro. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1544, n. 1/2, p. 196-206, Jan. 2001.

CAPÍTULO 2

QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE “LINHA DE LEITE”

RESUMO

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. Qualidade fisiológica de sementes de milho colhidas em diferentes estádios de “linha de leite”. **In: _____**
Maturação de sementes de milho: aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos. Lavras: UFLA, 2003. p.29-56. Tese (Doutorado Em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Com o objetivo de avaliar a qualidade fisiológica de sementes de híbridos de milho colhidas em diferentes estádios de “linha de leite”, após a secagem e armazenamento, foi realizado o presente trabalho no laboratório de sementes da UFLA, em parceria com a Monsanto do Brasil SA. Foram utilizadas sementes dos híbridos AG-9090, AG-9010, DKB-350 e DKB-747, produzidas no outono/inverno de 2000, nos municípios de Iraí de Minas - MG, Campo Florido - MG, Miguelópolis - SP e Guaira - SP. Em cada campo foram demarcadas 4 faixas, onde foram colhidas 100 espigas por estádio de linha de leite (LL), que são: LL2, LL3, LL4 e LL5, contemplando, respectivamente, 25%, 50%, 75% e 100% de endosperma endurecido. As espigas foram transportadas até o laboratório de sementes da UFLA, onde foram amostradas para determinação do teor de água das sementes e, em seguida, despalhadas e levadas aos secadores experimentais, onde foram secadas em temperatura inicial de 35°C até atingirem 20% de teor de água, seguida de temperatura de 42°C até 12% de teor de água. Foram realizados testes de germinação, condutividade elétrica, teste de frio sem solo e envelhecimento acelerado, após secagem e após 8 meses de armazenamento. Após secagem, foram observados valores acima de 95% nos testes de germinação e acima de 85% nos testes de vigor. Após 8 meses de armazenamento, foram constatados menores valores de germinação e vigor para as sementes colhidas na LL-2 para todos os híbridos avaliados. Os resultados permitiram concluir que as sementes colhidas a partir do estádio 3 de linha de leite (LL-3), quando se encontram com 50% do endosperma sólido, se secadas adequadamente não sofrem prejuízo de sua qualidade fisiológica, podendo ser armazenadas por oito meses.

¹ Comitê Orientador: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Orientador), Profª. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA e Prof. Renato Mendes Guimarães –UFLA.

ABSTRACT

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. Physiological quality of corns seeds harvested at different milk line stages. **In: _____ Maturation of corn seeds: physical, biochemical and physiological aspects.** Lavras: UFLA, 2003. p.29-56. (Thesis - Doctorate in Crop Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Aiming at evaluating the physiological quality of hybrid seeds of corn harvested at different milk line stages after drying and storage, the present work was performed at the UFLA seed laboratory together with Monsanto do Brasil S/A. Seeds of the hybrids AG-9090, AG-9010, DKB-350 and DKB-747 produced in the winter of 2000 in the towns of Iraí de Minas - MG, Campo Florido - MG, Miguelópolis -SP and Guaíra - SP were utilized. In each field were drawn four rows, where 100 ears were harvested per milk line stage (ML), which are ML2, ML 3, ML 4 and ML 5, displaying, respectively, 25%, 50%, 75% and 100% of hardened endosperm were harvested. The ears were transported to the UFLA seed laboratory where they were sampled for determination of water content of seeds and next, they had their straws removed and were taken to the experimental dryers where were dried at the initial temperature of 35°C to reach 20% of water content followed by temperature of 42°C to 12% of water content. Tests of germination, electric conductivity, cold test without soil and accelerated aging after drying and after 8 month storage were accomplished. After drying, values above 95% in the germination tests and above 85% in the vigor tests were found. After 8 months storage lower values of germination and vigor for the seeds harvested at ML-2 for all the hybrids evaluated were observed. The results enabled to conclude that the seeds do not suffer prejudice in terms of physiological quality when harvested from the milk line 3 stage (50% of solid endosperm) and dried properly. In this case, they can be stored by eight months.

¹ Guidance Committee: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Major Professor), Prof^ª. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA and Prof. Renato Mendes Guimarães - UFLA

1 INTRODUÇÃO

Sementes de milho podem ser colhidas a partir do momento em que atingem altos níveis de qualidade, evitando a sua permanência das mesmas no campo, o que freqüentemente compromete a qualidade. Além disso, a colheita antecipada das sementes de milho, na forma de espigas, traz uma série de benefícios, possibilitando melhor aproveitamento da estrutura de produção e beneficiamento.

Para a maioria das espécies, a colheita deve ser realizada quando as sementes atingem o máximo peso seco, no chamado ponto de maturidade fisiológica, que pode coincidir ou não com o máximo vigor e germinação. As mudanças nas características morfológicas e fisiológicas durante a maturação das sementes têm sido usadas no desenvolvimento de métodos para identificar a maturidade, visando determinar o ponto de colheita das sementes, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica. Para o milho, os métodos mais freqüentemente utilizados são os que têm como base o teor de água das sementes e a ocorrência da camada negra. No entanto, esses métodos apresentam algumas limitações como indicadores ideais do momento de colheita (Afuakwa & Crookston, 1984).

A maturação de sementes de milho pode ser acompanhada também pela linha de leite. Durante o processo de maturação ocorre a progressiva solidificação do endosperma leitoso, devido à conversão da sacarose em amido, começando no ápice e terminando na base da semente. Nesse período, a linha de leite é uma camada externamente visível na face oposta ao embrião, que limita as matrizes sólida e líquida do endosperma.

Hunter et al. (1991) propuseram um sistema de estádios variando de 1 a 5 para a formação da linha de leite, contemplando endosperma inteiramente

líquido (estádio 1), 25%, 50%, 75% e 100% de endosperma endurecido, estádios 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

Com base no acompanhamento da linha de leite, vários pesquisadores têm identificado o ponto de maturidade fisiológica e época ideal de colheita de sementes de milho (Afuakwa & Crookston, 1984; Hunter et al., 1991; Vieira et al., 1995; Tekrony & Hunter, 1995). Este é considerado um método eficiente para monitorar a maturidade da semente por ser facilmente detectável no campo, sem necessidade de instrumentos; ao contrário da camada negra, cujo desenvolvimento é o ponto final, o movimento da linha de leite pode ser acompanhado por um período de tempo maior.

Afuakwa & Crookston (1984) reportaram que aproximadamente 95% do máximo peso seco foi acumulado quando a linha de leite alcançou a metade do comprimento da semente. Hunter et al. (1991), após estudarem diferentes indicadores de maturidade fisiológica de sementes de milho utilizando carbono-14 como marcador, verificaram que a maturidade fisiológica ocorreu quando 75% do comprimento das sementes continha endosperma solidificado e a linha de leite estava presente no quarto inferior da semente.

O monitoramento da linha de leite mostra-se um método eficiente e prático para a identificação, no campo, da época adequada para a colheita de sementes de milho. Com a tendência atual de as empresas produtoras de sementes de milho realizarem a colheita em espigas e, portanto, com maior teor de água, torna-se interessante o estudo de quão mais cedo as sementes podem ser retiradas do campo sem prejuízos de suas qualidades fisiológicas.

Por meio de investigações que relacionam a qualidade de sementes de milho com a maturidade, tem sido mostrado que o máximo vigor e germinação das sementes ocorrem com altos teores de água, antes que a semente tenha alcançado a maturidade fisiológica, baseada no acúmulo de matéria seca.

(Knittle & Burris, 1976; Borba et al., 1994; Tekrony & Hunter, 1995). Assim, sementes de milho colhidas antes da maturidade fisiológica poderiam ser tão vigorosas quanto as colhidas na maturidade ou após esta (Knittle & Burris 1976).

A linha de leite como característica física para detecção do ponto ideal de colheita no campo poderá ser mais precisamente utilizada após determinada sua correlação com parâmetros fisiológicos que indicam o vigor das sementes, fornecendo subsídios adicionais à tomada de decisões para o planejamento dos processos de colheita e secagem de sementes de milho em espigas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de híbridos de milho colhidas em diferentes estádios de “linha de leite”, após a secagem e armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção, colheita e secagem

Os trabalhos foram realizados no laboratório de análise de sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em parceria com a empresa Monsanto do Brasil S.A., que produziu e forneceu as sementes dos híbridos. Foram utilizados os híbridos AG-9090, AG-9010, DKB-350 e DKB-747 (Tabela 2.1), produzidos no outono/inverno de 2000, respectivamente, nos municípios de Iraí de Minas – MG (semeadura em 15/02), Campo Florido – MG (semeadura em 07/04), Miguelópolis - SP (semeadura em 03/04) e Guaíra – SP (semeadura em 05/04).

TABELA 2.1. Características dos híbridos utilizados. UFLA, Lavras –MG, 2003.

| Híbrido | Tipo | Ciclo | Tipo e cor do grão | Florescimento (dias) |
|----------|---------|---------------|--------------------------|----------------------|
| AG- 9090 | Simples | Precoce | Semidentado amarelo | 81 |
| AG- 9010 | Simples | Super-precoce | Duro alaranjado | 53 |
| DKB-350 | Triplo | Precoce | Semiduro alaranjado | 66 |
| DKB-747 | Duplo | Precoce | Semiduro amarelo laranja | 62 |

Todos os campos foram cultivados sob irrigação por pivot central e a adubação aplicada na semeadura foi de 350 kg.ha⁻¹ do formulado 08-20-20, com

cobertura parcelada, sendo a primeira aplicação realizada quando as plantas apresentavam-se com cinco folhas expandidas, com 200 kg.ha⁻¹ de 20-00-20 e a segunda, com 140 kg.ha⁻¹ de uréia, quando as plantas apresentavam-se com oito folhas expandidas. Os demais tratos culturais foram realizados segundo as recomendações para a cultura.

Em cada campo de produção, foram demarcadas 4 faixas nas linhas do parental feminino, com aproximadamente 3000 plantas, que constituíram 4 repetições de campo, onde foram colhidas 100 espigas para cada estágio de linha de leite (LL). Os estádios de linha de leite foram identificados por meio da inspeção visual, com base na amostragem de 6 sementes retiradas da parte mediana de 5 espigas obtidas de plantas em competição completa e sadias. Cada semente foi cortada longitudinalmente e de uma das metades foi retirada toda a parte leitosa e o embrião. Pela comparação com a metade intacta, estimou-se a porcentagem de endosperma solidificado.

As amostragens de sementes foram iniciadas no estágio 2 de linha de leite (LL-2), de acordo com a metodologia proposta por Hunter et al. (1991):

- LL-2 - 25% do comprimento da semente preenchido com endosperma solidificado; linha de leite localizada no quarto superior do comprimento da semente.
- LL-3 - 50% do endosperma sólido; linha de leite localizada no meio da semente.
- LL-4 - 75% do comprimento da semente com endosperma solidificado; linha de leite localizada no quarto inferior da semente.
- LL-5 - Endosperma completamente sólido; linha de leite ausente.

As espigas foram colhidas manualmente e transportadas até o laboratório embaladas em lona isolante térmica, onde foram imediatamente amostradas para determinação do teor de água das sementes. Em seguida, foram despalhadas e levadas aos secadores experimentais de pequena escala, construídos com base no modelo descrito por Navratil & Burris (1982). Cada secador constituiu-se de uma base, quatro gavetas empilháveis dotadas de encaixes especiais e um tampo. Cada base, de 61 x 61 x 61 cm, abriga um conjunto de resistências elétricas, fonte de calor, com capacidade de 3400 kW, cuja temperatura é controlada por um termostato industrial microprocessado, marca Digimec, modelo BTC-9090. Do lado externo da base, existe um ventilador centrífugo, ligado a um motor de 0,25 kW, 115V, capaz de elevar 196 litros/segundo a 7,6 cm de pressão estática. Cada gaveta possui dimensão de 61 x 61 x 15,2 cm e a sua base é constituída de uma malha de ferro que permite a livre passagem do ar de secagem. O fluxo de ar, de $23 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$, foi ajustado por meio de uma porta graduada, deslizável e fixada na entrada.

As sementes foram secadas em temperatura inicial de 35°C até atingirem 20% de teor de água, seguida de temperatura de 42°C até 12% de teor de água (Rosa, 2000). Em seguida, foram debulhadas a mão, acondicionadas em sacos de papel e estocadas em câmara fria e seca (10°C e 40% UR) até a realização dos testes para avaliação da qualidade fisiológica por meio dos testes de germinação, teste de frio, envelhecimento acelerado, emergência em bandejas e condutividade elétrica. Parte das sementes secas foram tratadas com os fungicidas Captan 500 e Tecto 600 na dosagem de 200g e 75g, respectivamente para cada 100kg de sementes, e em seguida armazenadas por 8 meses em condições ambiente, em que o registro da temperatura e umidade relativa foi realizado por meio de um termohigrógrafo (Figura 2.1). Após o armazenamento, as sementes foram submetidas aos mesmos testes de germinação e vigor conduzidos com as sementes não armazenadas.

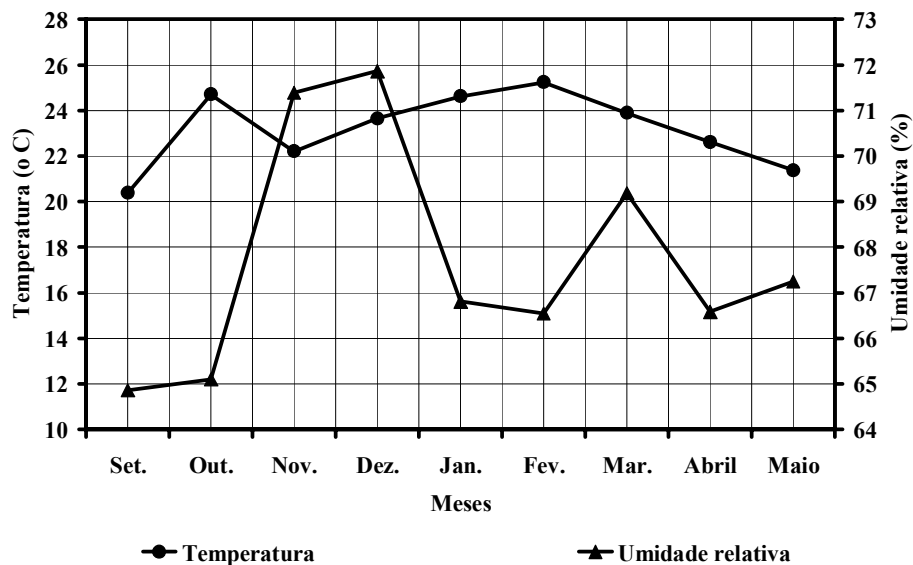


FIGURA 2.1. Médias mensais de temperatura (°C) e de umidade relativa (%) do ar ambiente ocorridas durante o período de armazenamento das sementes (setembro de 2000 a maio de 2001). UFLA, Lavras – MG, 2003.

2.2 Características avaliadas

2.2.1 Teor de água

A determinação do teor de água foi efetuada pelo método da estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 50g para cada tratamento, segundo os critérios estabelecidos pelas RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.2.2 Teste de germinação

Para o teste de germinação foram utilizadas 400 sementes (4 subamostras de 25 por repetição do campo), semeadas em papel toalha tipo Germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, e colocadas para germinar à temperatura de 25°C. Foram realizadas duas contagens, sendo a primeira no quarto dia e a última no sétimo dia após a semeadura, segundo prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem, com base no número inteiro aproximado de plântulas normais.

2.2.3 Teste de frio

O teste de frio sem solo foi realizado conforme metodologia proposta por Loeffler et al. (1985), com quatro repetições de 25 sementes distribuídas em papel toalha, umedecidas com quantidade de água equivalente a três vezes o peso do papel toalha seco. Após a semeadura, os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos, que foram vedados com fita adesiva e mantidos em câmara regulada a 10°C durante 7 dias. Ao final desse prazo, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e transferidos para germinador a 25°C, onde permaneceram por 5 dias, quando se efetuou a contagem das plântulas normais, e os resultados foram expressos em porcentagem.

2.2.4 Teste de envelhecimento acelerado

No teste de envelhecimento acelerado as sementes foram acondicionadas sobre tela suspensa acoplada em caixa acrílica do tipo gerbox com uma lâmina de água de 40ml no fundo, suspensas 2cm por uma fina malha metálica. Em

seguida, foram colocadas em câmara tipo “BOD” a 42°C e mantidas durante 96 horas (ISTA, 1995). Após este período, quatro subamostras de 25 sementes por repetição de campo foram colocadas para germinar conforme o teste de germinação. A avaliação foi realizada no sétimo dia após a sementeira, computando-se o número de plântulas normais.

2.2.5 Teste de condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica de massa foi realizado com quatro subamostras de 25 sementes que foram pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75ml de água deionizada, cuja condutividade não excedia 3µmhos/cm/g; as leituras de condutividade foram realizadas após 24 horas de embebição a 25°C, com condutivímetro Digimed, modelo CD-21, e os resultados expressos em µmhos/cm/g de semente.

2.3 Análise estatística

O delineamento experimental para todas as avaliações foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. Utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2000), foram realizadas análises estatísticas para os testes de vigor, germinação para cada híbrido Utilizando o teor de água das sementes em cada linha de leite como variável independente, foram realizados estudos de regressão para os testes de germinação e de vigor realizados após a secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância para os resultados dos testes realizados para os quatro híbridos estão apresentados nas Tabelas 1A a 4A.

As sementes colhidas nos quatro estádios de linha de leite para os quatro híbridos apresentaram teores de água que variaram de 48,5% a 55,1% na LL-2 (linha de leite 2), 41,0 a 50,0% na LL-3 (linha de leite 3); 35,5 a 41,7% na LL-4 (linha de leite 4) e 27,4 a 32,0% na LL-5 (linha de leite 5) (Tabela 2.2).

TABELA 2.2. Teores de água de sementes colhidas nos quatro estádios de linha de leite para os quatro híbridos avaliados. UFLA, Lavras - MG, 2003.

| Linha de leite | Híbridos | | | |
|----------------|----------|---------|---------|---------|
| | AG-9090 | DKB-350 | AG-9010 | DKB-747 |
| LL-2 | 55,10 | 52,30 | 52,10 | 48,50 |
| LL-3 | 50,10 | 48,50 | 41,30 | 41,10 |
| LL-4 | 42,00 | 35,50 | 37,30 | 36,20 |
| LL-5 | 28,30 | 27,30 | 32,00 | 30,30 |

Foram encontradas relações quadráticas altamente significativas entre os teores de água nos 4 estádios de linha de leite e as porcentagens de germinação de sementes dos quatro híbridos, antes e após o armazenamento, sendo que os coeficientes de determinação (R^2) encontrados foram superiores a 0,91, indicando que os dados apresentaram grande ajuste às equações. (Figuras 2.2 e 2.3).

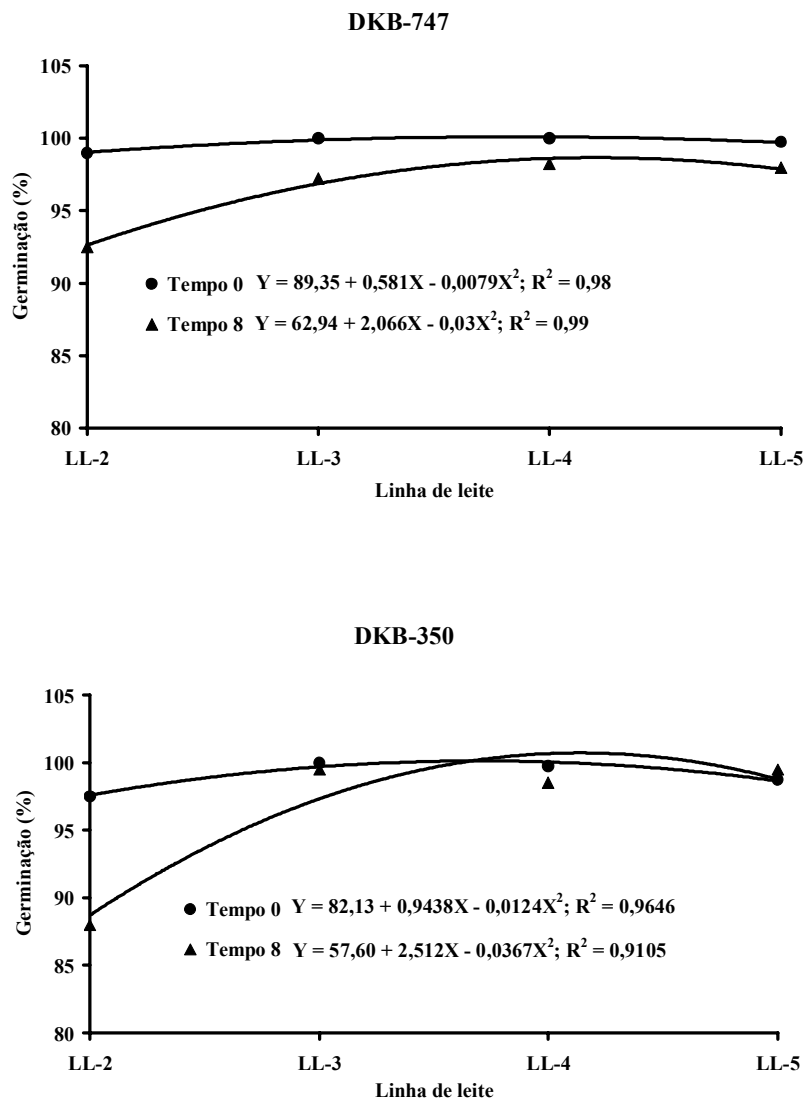


FIGURA 2.2. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados de germinação (%), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos DKB-747 e DKB-350, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras – MG, 2003.

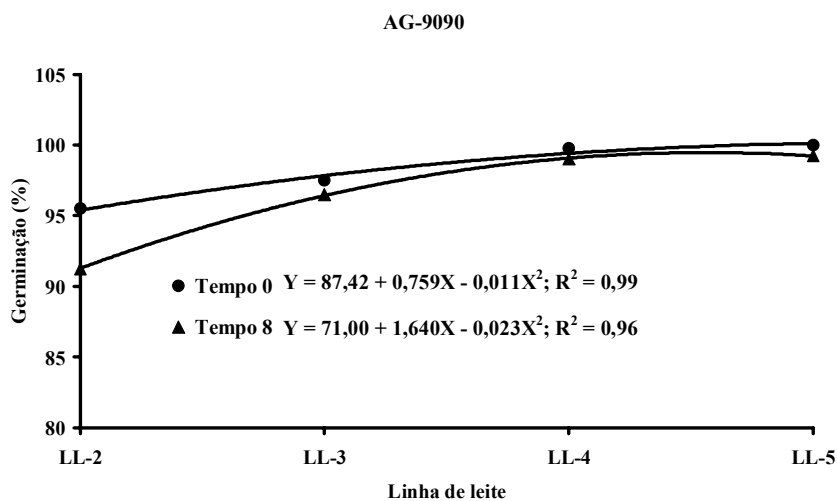
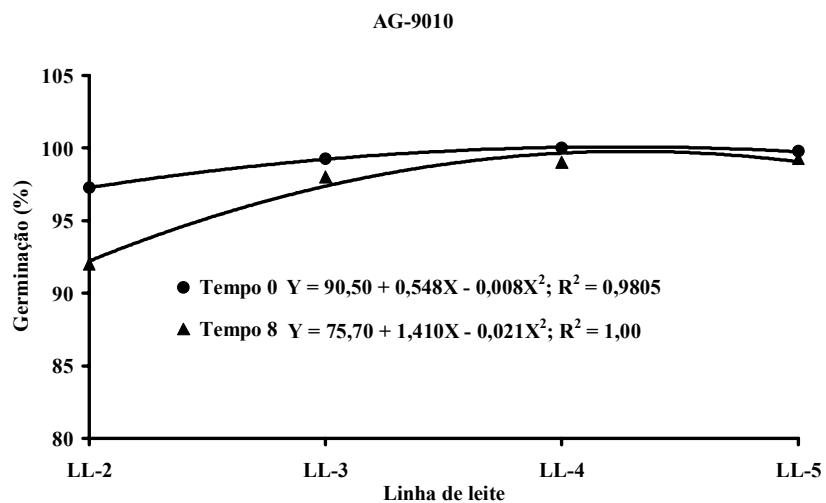


FIGURA 2.3. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados de germinação (%), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos AG-9010 e AG-9090, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Após secagem (tempo 0), foram observadas, para os quatro híbridos, taxas de germinação acima de 95%, para as sementes colhidas em todos os estádios de linha de leite. Após 8 meses de armazenamento, observou-se pequeno decréscimo na viabilidade das sementes colhidas na LL-2, entretanto os valores obtidos mantiveram-se acima de 85%, que é o mínimo preconizado para comercialização de sementes. Esses resultados evidenciam que após a secagem, mesmo as sementes colhidas com altos teores de água apresentaram percentuais de germinação iguais aos das sementes colhidas com menores teores de água (Figura 2.2 e 2.3). A secagem inicial a 35°C até que as sementes atingissem 20% de teor de água foi importante para a obtenção desses resultados. Rosa (2000) observou que a secagem inicial a 35°C (pré-condicionamento) tornou as sementes colhidas com altos teores de água tolerantes à subsequente secagem a 50° C, proporcionando melhoria na sua qualidade quando comparada à secagem contínua.

Os percentuais observados nos testes de vigor, para os quatro híbridos no início do armazenamento (tempo 0), e aos 8 meses (tempo 8), e analisados em relação aos teores de água em cada linha de leite, também se ajustaram às equações quadráticas altamente significativas, com coeficientes de determinação sempre superiores a 0,88 (Figuras 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8 e 2.9). Nos testes de envelhecimento acelerado e de frio realizados após secagem (tempo 0) foram observados valores acima de 80%, mas foi evidenciada a superioridade das sementes colhidas nos estádios LL-3, LL-4, e LL-5 em relação às colhidas no estádio LL-2. Por meio das equações de regressão, pôde-se estimar os teores de água em que se obteve o máximo percentual nos testes de vigor para cada híbrido. No teste de frio, estes percentuais foram de 41,6% para o DKB-747 e 41,28% para o AG-9010, valores que coincidiram com aqueles observados no estádio 3 da linha de leite (LL-3). Para os híbridos DKB-350 e AG-9090, os

percentuais foram de 31,8% e 32,6%, os quais foram observados a partir do estágio 4 (LL-4).

Nas avaliações realizadas após 8 meses de armazenamento observou-se para todos os testes e híbridos, menor vigor, em alguns casos intensificando a inferioridade das sementes colhidas na LL-2. Isso foi mais evidente para os híbridos DKB-350 e AG-9090, tanto no teste de frio como no teste de envelhecimento acelerado (Figuras 2.4, 2.5, 2.6 e 2.7). Quando armazenadas, sementes mais imaturas, colhidas no estágio 2 de linha de leite, mostraram-se mais sensíveis ao processo de deterioração. As sementes colhidas a partir da LL-3 não sofreram perda significativa de vigor após 8 meses de armazenamento em condições ambientais. As sementes colhidas no estágio de linha de leite 2 (LL-2), se apresentam com menor reserva em relação às colhidas nos demais estágios, o que explica em parte, a sua maior sensibilidade a deterioração.

Para os testes de condutividade elétrica (Figuras 2.8 e 2.9) realizados no início do armazenamento, foram observados valores que variaram de 4,31 $\mu\text{mhos/cm/g}$ para sementes colhidas na LL-5 a 24,15 $\mu\text{mhos/cm/g}$ para as colhidas na LL-2. À medida que os estágios de linha de leite avançaram, houve redução nos valores de condutividade. Após 8 meses observou-se aumento na condutividade das sementes colhidas em todas as linhas de leite, variando de 7,55 $\mu\text{mhos/cm/g}$ na LL-5 a 58,99 $\mu\text{mhos/cm/g}$ na LL-2. Este padrão de variação nos valores de condutividade elétrica que ocorre com o desenvolvimento de sementes de milho foi encontrado por Powell (1986) e Fagioli & Vieira (2000). Com o avanço dos estágios de maturação vai ocorrendo o desenvolvimento e organização estrutural das membranas celulares, o que explica a redução nos valores de condutividade elétrica. O desenvolvimento dos mecanismos de tolerância à dessecação com o avanço da maturação deve ser também considerado.

De uma maneira geral, maiores porcentagens de germinação e vigor foram observadas em sementes colhidas a partir do estágio 3 de linha de leite. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por outros autores que encontraram alta qualidade fisiológica em colheitas antecipadas em relação ao máximo acúmulo de matéria seca (Vieira et al., 1995; Borba et al., 1994; Hunter et al., 1991; Tekrony & Hunter, 1995; Ajayi & Fakorede, 2000). Vieira et al. (1995) concluíram que a colheita de sementes de milho poderia ser realizada entre os estádios 3 e 4 de linha de leite, sem perda de qualidade fisiológica.

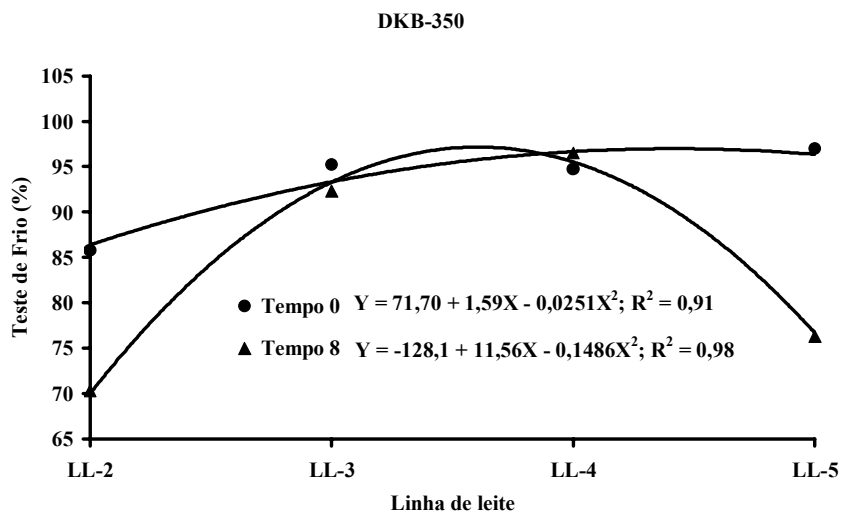
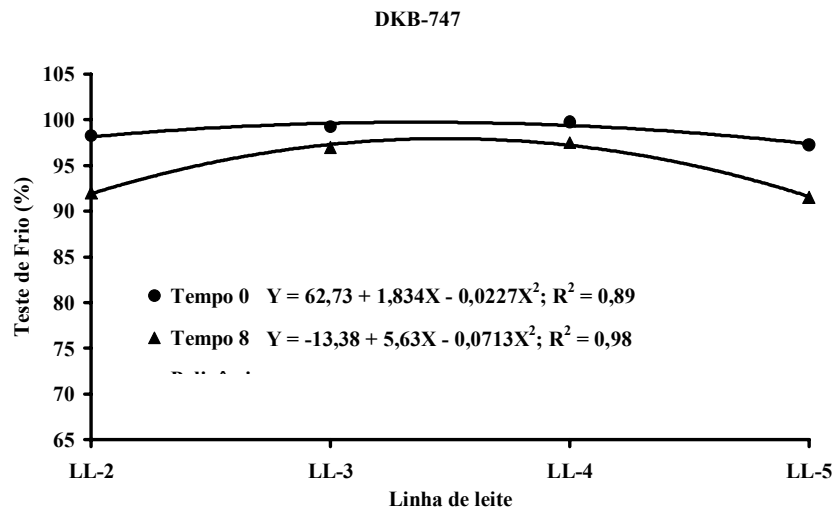


FIGURA 2.4. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados do teste de frio (%), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos DKB-747 e DKB-350, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras- MG, 2003.

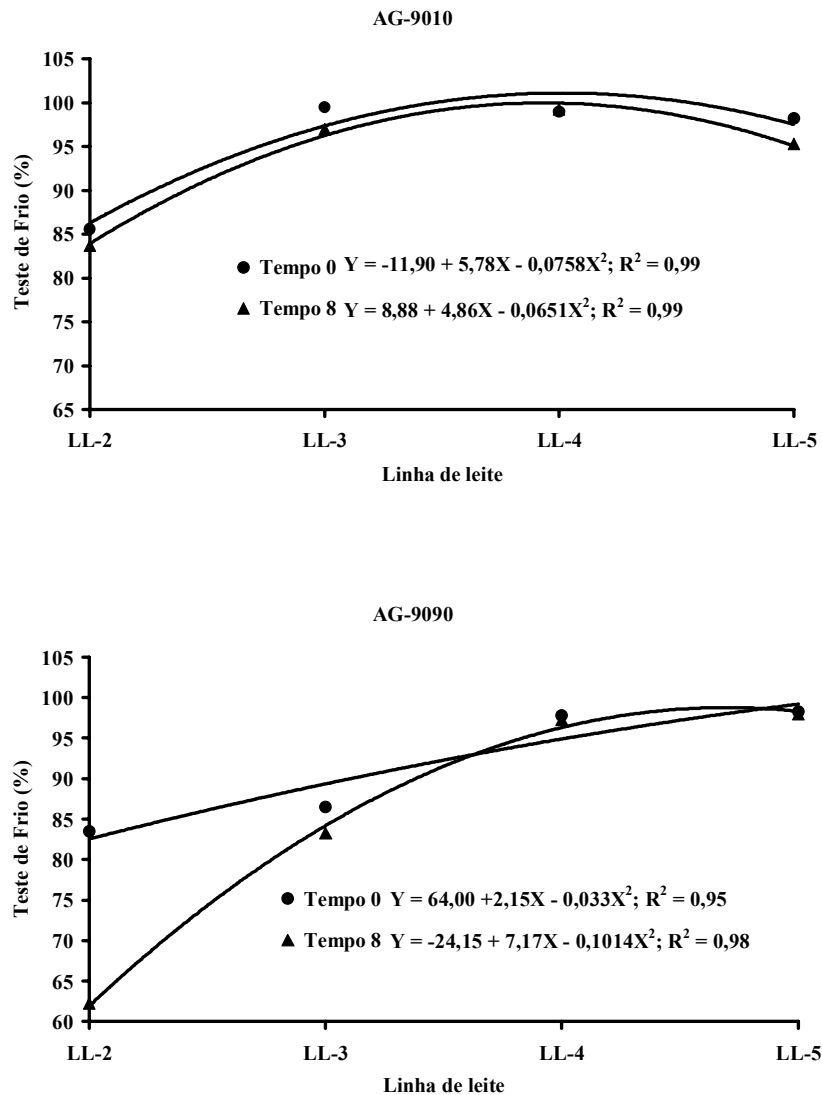


FIGURA 2.5. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados do teste de frio (%), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos AG-9010 e AG-9090, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras- MG, 2003.

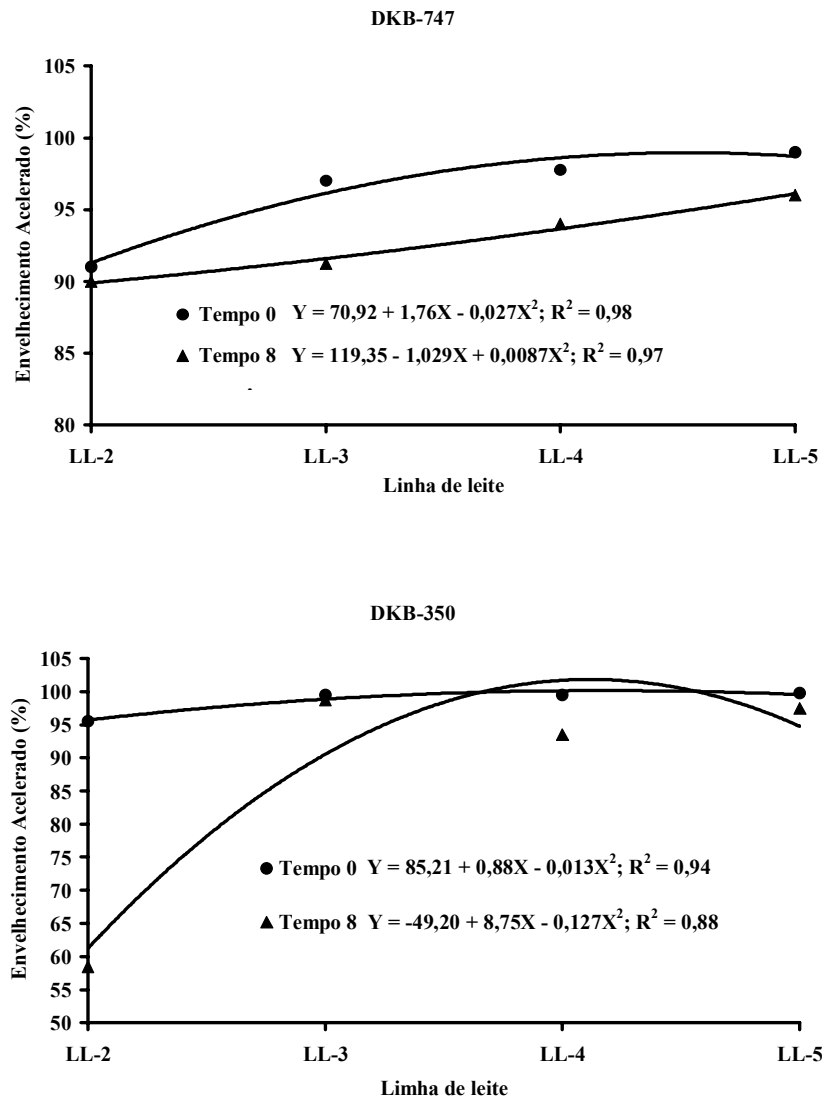


FIGURA 2.6. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados do teste de envelhecimento acelerado (%), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos DKB-747 e DKB-350, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras- MG, 2003.

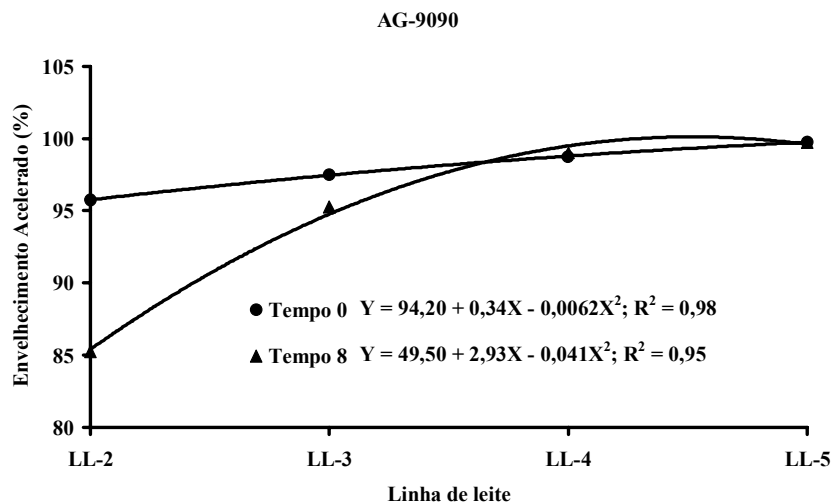
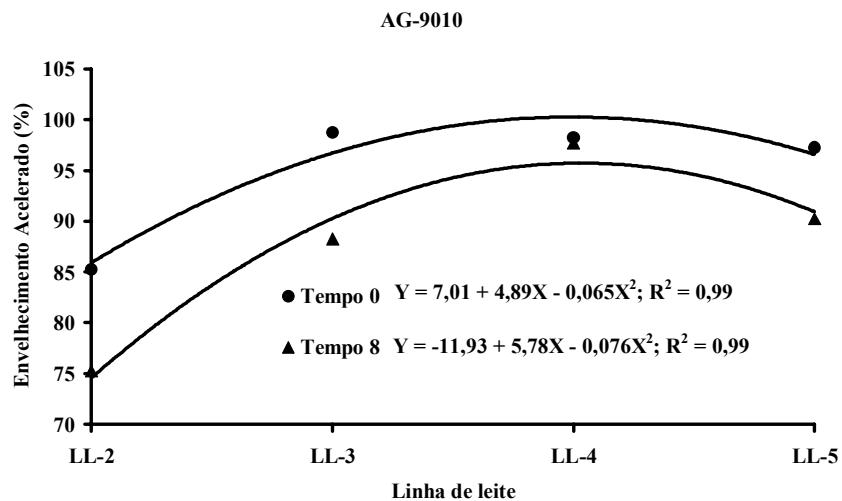


FIGURA 2.7. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados do teste de envelhecimento acelerado (%), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos AG-9010 e AG-9090, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras- MG, 2003.

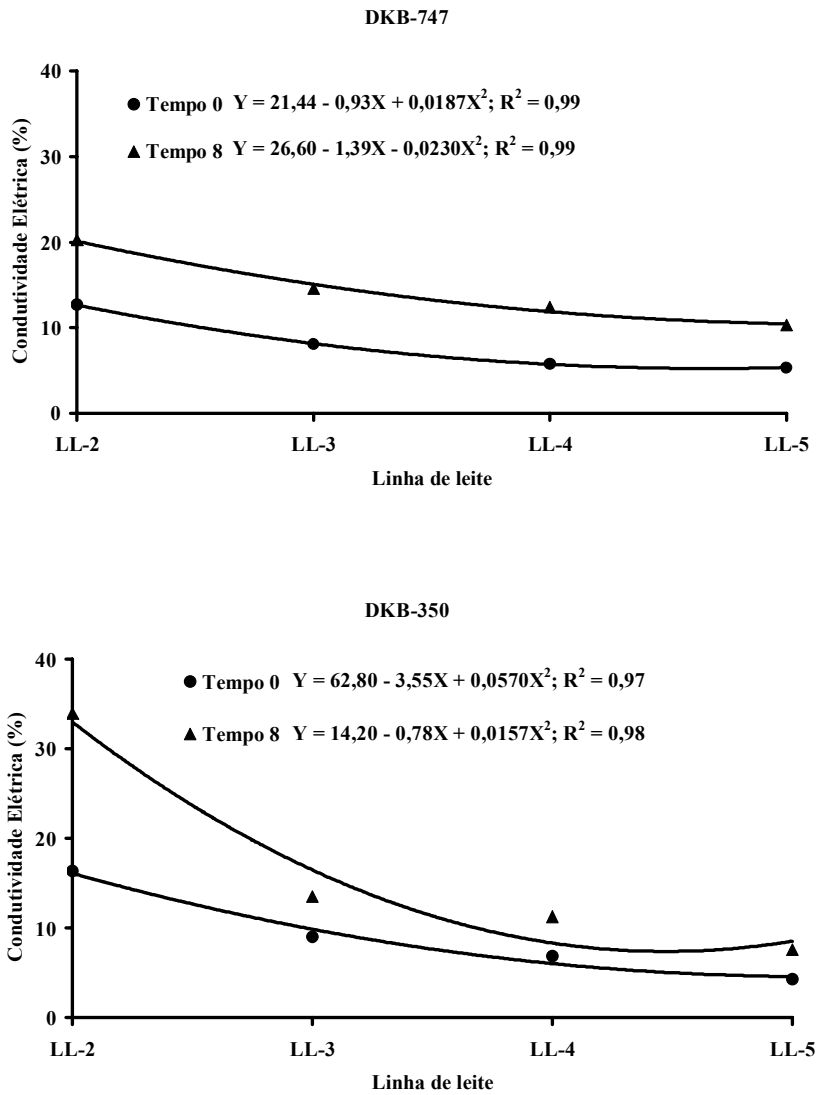


FIGURA 2.8. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados do teste condutividade elétrica ($\mu\text{mhols/cm/g}$), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos DKB-747 e DKB-350, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras- MG, 2003.

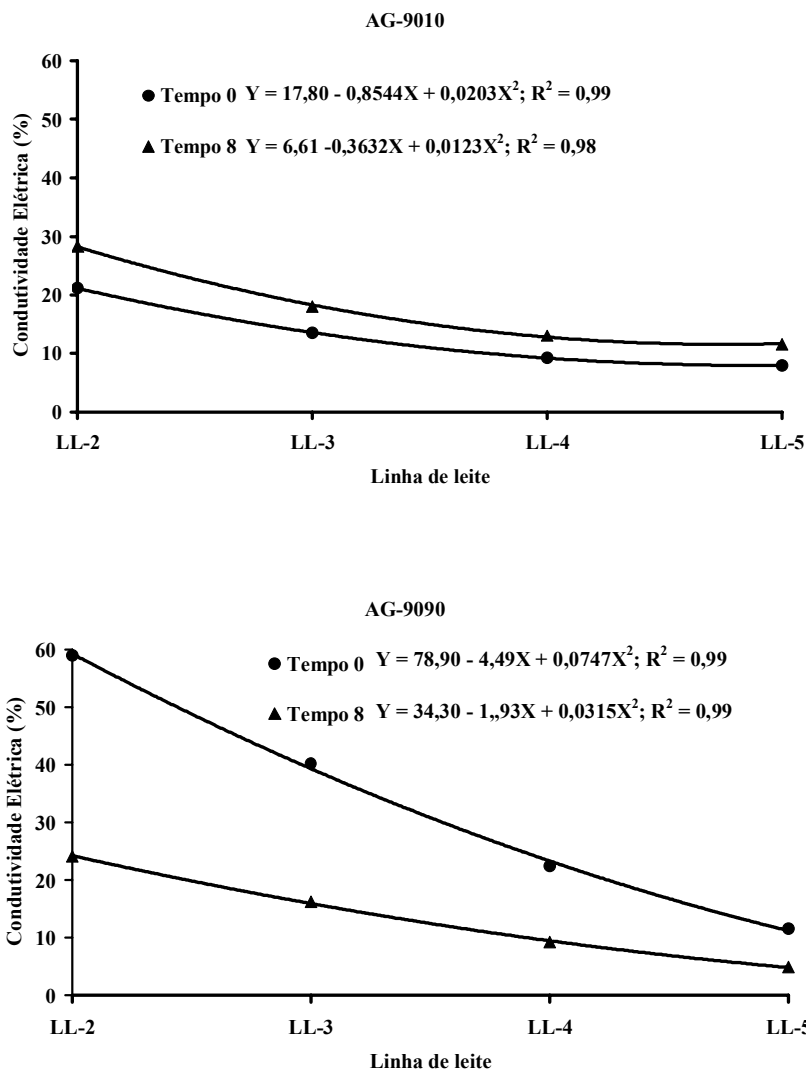


FIGURA 2.9. Representação gráfica das equações de regressão para os resultados do teste condutividade elétrica ($\mu\text{mhos/cm/g}$), em função dos teores de água em cada estágio de linha de leite (LL), para as sementes dos híbridos AG-9010 e AG-9090, após secagem (tempo 0) e após 8 meses de armazenamento (tempo 8). Os valores de LL-2, LL-3, LL-4 e LL-5, correspondem aos teores de água das sementes colhidas em cada um desses estádios. UFLA, Lavras- MG, 2003.

Também, Borba et al. (1995) sugeriram antecipar a colheita em 14 dias da maturidade fisiológica, uma vez que foram observadas altas taxas de vigor nesse estágio, mesmo antes de as sementes atingirem o máximo peso seco.

Em seus estudos com linhagens, híbridos simples e duplos, Tekrony & Hunter (1995) encontraram o máximo vigor no estágio 4 de linha de leite, antes do completo enchimento das sementes, para todos os materiais estudados. Também nos trabalhos de Ajayi & Fakorede (2000), embora o peso seco das sementes não tenha sido o mais alto no estágio 3 de linha de leite, as sementes colhidas neste estágio apresentaram a melhor performance, levando os autores a considerarem que esse foi o momento em que a maturidade fisiológica ocorreu, ou seja, aos 41 dias após o florescimento. Esses autores encontraram maior velocidade de germinação para as sementes colhidas nos estágios iniciais de maturação do que para as colhidas na maturação completa. Supõe-se que a composição bioquímica antes da maturidade fisiológica é mais simples e, desta forma, as sementes seriam capazes de embeber água mais rapidamente para iniciar a cadeia de reações enzimáticas necessárias para converter materiais de reserva em formas capazes de iniciar a germinação.

Os resultados confirmam que o vigor não está necessariamente associado com a quantidade ou com o total de matéria seca na semente, mas com a composição ou forma dos nutrientes acumulados no momento da colheita. Assim, as plantas podem ter acumulado reservas nutritivas vitais nas sementes por volta do estágio 3 de linha de leite. Isto explica porque, após 8 meses de armazenamento, o vigor foi pouco alterado nas sementes colhidas a partir deste estágio, o que corrobora Basu (1995), que conclui ser a disponibilidade de fatores nutritivos específicos mais decisiva para a viabilidade das sementes do que o conteúdo total destes fatores.

4 CONCLUSÃO

As sementes colhidas a partir do estágio 3 de linha de leite (LL-3), quando se encontram com 50% do endosperma sólido, se secadas adequadamente, não sofrem prejuízo de sua qualidade fisiológica, podendo ser armazenadas por oito meses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFUAKWA, J. J.; CROOKSTON, R. K. Using the kernel milk line to visually monitor grain maturity in maize. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 4, p. 687-691, July/Aug. 1984.

AJAYI, S. A.; FAKOREDE, M. A. B. Physiological maturity effects on seed quality, seedling vigour and mature plant characteristics of maize in a tropical environment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 2, p. 301-319, 2000.

BASU, R. W. Seed viability. In: BASRA, A. S. (Ed.). **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. Food Products Press, 1995. p. 1-44.

BORBA, C. B.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T.; OLIVEIRA, A. C. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 63-67, 1994.

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

CARTER, M. W.; PONELEIT, C. G. Black layer maturity and filling period among inbred lines of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 3, p. 436-476, May/June 1973.

FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D. Avaliação do desenvolvimento de sementes de milho (milk line) pelo teste de condutividade elétrica e lixiviação de nutrientes da solução de embebição. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2000, Uberlândia. **Resumos...** Sete Lagoas: ABMS/Emprapa Milho e Sorgo/Universidade Federal de Uberlândia, 2000. p. 284.

FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; CASAGRANDE, J. R. R. Efeito de genótipos e dos estádios de maturação na qualidade de sementes de milho. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 9, n. 1/2, p. 32, jul./ago. 1999.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análise estatística – SISVAR**. Lavras – MG: UFLA-DCE, 2000.

HUNTER, J. L.; TEKRONY, D. M.; MILES, D. F.; EGLI, D. B. Corn seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilate. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 5, p. 1309-1313, Sept./Oct. 1991.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. **Handbook of vigours tests methods**. 3. ed. Zurich, 1995. 117 p.

KNITTLE, K. H.; BURRIS, J. S. Effect of kernel maturation on subsequent seedling vigor in maize. **Crop Science**, Madison v. 16, n. 6, p. 851-854, Nov./Dec. 1976.

LOEFFLER, N. L.; MEIER, J. L.; BURRIS, J. S. Comparison of two cold test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, n. 3, p. 653-658, 1985.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. Small-scale dryer designer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 1, p. 159-161, Jan./Feb. 1982.

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

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

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 857-862, May/June 1995.

VIEIRA, R. D.; MINOHARA, L.; CARVALHO, N. M.; BERGAMASCHI, M. C. M. Relationship of black layer and milk line development on maize seed maturity. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 142-147, Jan./Apr. 1995.

CAPÍTULO 3

GERMINABILIDADE E TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE MILHO COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

RESUMO

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. Germinabilidade e tolerância à dessecação em sementes de milho colhidas em diferentes estádios de maturação.

In: _____ Maturação de sementes de milho: aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos. Lavras: UFLA, 2003. p.57-87. Tese (Doutorado Em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Visando obter subsídios adicionais às tomadas de decisões a respeito da época de colheita e secagem de sementes de milho em espigas, foram estudados aspectos bioquímicos e fisiológicos de sementes de milho colhidas em diferentes estádios de linha de leite e submetidas à secagem artificial. Os trabalhos foram realizados no laboratório de sementes da UFLA, em parceria com a Monsanto do Brasil SA. Foram utilizadas sementes dos híbridos AG-9090, AG-9010, DKB-350 e DKB-747, produzidas no outono/inverno de 2000, nos municípios de Iraí de Minas - MG, Campo Florido - MG, Miguelópolis - SP e Guaira - SP. Em cada campo foram demarcados 4 faixas onde foram colhidas 100 espigas por estádio de linha de leite (LL), que são: LL2, LL3, LL4 e LL5, contemplando respectivamente, 25%, 50%, 75% e 100% de endosperma endurecido. As espigas foram transportadas até o laboratório de sementes, onde foram amostradas para determinação do teor de água e em seguida despalhadas e levadas aos secadores experimentais, onde foram secadas em temperatura inicial de 35°C até atingir 20% de teor de água, seguida de temperatura de 42°C até 12% de teor de água. Foram realizados testes de germinação, condutividade elétrica, teste de frio sem solo e envelhecimento acelerado, análises eletroforéticas de α -amilase e de proteínas resistentes ao calor, utilizando sementes antes e após secagem. Concluiu-se que a germinabilidade de sementes de milho aumenta com a perda de água no campo e é obtida integralmente por meio de uma secagem moderada para as sementes colhidas a partir do estádio três de linha de leite (LL3), fase em que as sementes já adquiriram tolerância à dessecação e se apresentam com alta qualidade fisiológica.

¹ Comitê Orientador: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Orientador), Prof^a. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA e Prof. Renato Mendes Guimarães –UFLA.

ABSTRACT

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. Germinability and desiccation tolerance in corn seeds harvested at different maturation stages. **In: _____**
Maturation of corn seeds: physical, biochemical and physiological aspects.
Lavras: UFLA, 2003.p.57-87. (Thesis - Doctorate in Crop Science) -
Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Aiming at obtaining additional subsidies to decision-making concerning harvest time and drying of corn seeds on ears, biochemical and physiological aspects of seeds harvested at different milk line stages and submitted to artificial drying was studied. The experiments were accomplished at UFLA Seed Laboratory in association with Monsanto do Brasil S.A. Seeds of the hybrids AG-9090, AG-9010, DKB-350 and DKB-747, produced in the 2000 winter in the towns of Iraí de Minas – MG, Campo Florido – MG, Miguelópolis – SP and Guaíra – SP were utilized. In each field, four rows were demarcated where 100 ears per milk line stage (namely ML2, ML3, ML4 e ML5, containing , respectively, 25%, 50%, 75% and 100% of hardened endosperm), were harvested. The ears were transported to that lab and were sampled for determination of seed water content. After straw removal, ears were taken to experimental dryers where they were dried at initial temperature of 35°C till they reached 20% of water content, followed by temperature of 42°C up to 12% of water content. Tests of germination, electric conductivity, cold test without soil and accelerated aging, electrophoresis analyses of α -amylase and heat resistant proteins were carried out, utilizing freshly harvested or dried seeds. We concluded that the germinability of corn seeds increases with water loss in the field and is fully obtained by means of a moderate drying of the seeds harvested from milk line stage 3 (ML3), phase in which seeds already achieved desiccation tolerance and present a high physiological quality.

¹ Guidance Committee: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Major Professor), Prof^a. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA and Prof. Renato Mendes Guimarães - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A realização da colheita de sementes de milho em espigas traz uma série de vantagens, devido à possibilidade de se colher próximo ao ponto de maturidade fisiológica, o que contribui para maior qualidade devido à menor exposição às condições ambientais adversas. O ganho em tempo e em utilização de estruturas de secagem e beneficiamento é interessante tanto para trabalhos de melhoramento como para bancos de germoplasma, e principalmente para produção de sementes híbridas comerciais. Como as sementes são colhidas com altos teores de água, é interessante que as empresas monitorem os estágios finais de maturação dessas sementes e conheçam o comportamento dos genótipos nesta fase do desenvolvimento.

Sabe-se que as sementes ortodoxas, como é o caso das sementes de milho, passam por uma secagem de maturação, considerada um evento terminal no desenvolvimento, que lhes possibilita entrar em estado metabolicamente quiescente, garantindo sua sobrevivência nas várias condições ambientais. Essa secagem atua para completar o processo de desenvolvimento e iniciar aqueles processos metabólicos que preparam as sementes para germinação e crescimento, quando reidratadas (Bewley, 1979; Kermode & Bewley, 1989).

A dessecação de sementes em desenvolvimento, imposta prematuramente ou durante os estágios finais de desenvolvimento, promove a germinação em subsequente embebição e induz a produção de enzimas requeridas para a mobilização de reservas, como é o caso da α -amilase, responsável pela hidrólise de amido em cereais. A capacidade de produzir α -amilase da camada de aleurona, não é normalmente adquirida até o início da secagem de maturação, mas pode ser induzida por dessecação prematura (Bewley & Black, 1994).

Antes de iniciar a perda de água natural, as sementes adquirem a capacidade de tolerá-la, preparando seus tecidos por meio de mudanças bioquímicas e estruturais. Essa tolerância é adquirida na fase de acumulação de reservas ou mais precocemente e pode ser induzida por meio de secagem lenta artificial, em determinados estádios de desenvolvimento (Vertucci & Farrant, 1995).

Um dos mecanismos pelos quais as sementes se preparam para tolerar a dessecação é o acúmulo de proteínas chamadas “LEA” (Late embryogenesis abundant) na fase final de maturação (Blackmam et al., 1991; Thomman et al. 1992). Segundo Kermode (1997), a expressão dessas proteínas coincide com a aquisição de tolerância à dessecação em todas as sementes ortodoxas estudadas até o momento, sendo que o mais alto nível de expressão ocorre durante a secagem de maturação. O seu padrão de acumulação, sua ocorrência abundante e suas características físicas de resistência à desnaturação e hidrofiliidade sugerem o seu evidente papel na tolerância à dessecação, protegendo os componentes celulares da falta de água, promovendo ajustamento osmótico ou substituindo a água (Han et al., 1997).

O início da tolerância à dessecação durante a maturação é também importante, pois indica a época mais precoce em que as sementes podem ser colhidas e submetidas à secagem artificial. A capacidade de as sementes ortodoxas suportarem a severa perda de água geralmente é também dependente da taxa de secagem, a qual tem mostrado afetar a sobrevivência das sementes (Pammenter & Berjak, 1999). Dessa forma, discute-se o envolvimento da fase de secagem na maturação no desenvolvimento de vigor das sementes. Alguns autores têm encontrado que a armazenabilidade de sementes, que é um indicativo de vigor, aumenta durante a fase de secagem na maturação (Sanhewe & Ellis, 1996; Kermode, 1995).

No momento da colheita, além do teor de água, o estágio de maturação também é importante para a sensibilidade das sementes à temperatura de secagem. Segundo Herter & Burris (1989), com a progressiva perda de umidade no campo, as sementes de milho tornam-se mais tolerantes a altas temperaturas de secagem.

Durante o processo de maturação de sementes de milho ocorre a progressiva solidificação do endosperma leitoso, devido à conversão da sacarose em amido, começando no ápice e terminando na base da semente. Nesse período, a linha de leite é uma camada externamente visível na face oposta ao embrião, que limita as matrizes sólida e líquida do endosperma e é um marcador interessante para o acompanhamento do processo de maturação de sementes de milho.

Desta forma, o comportamento de sementes de milho colhidas com altos teores de água e submetidas à secagem artificial em vários estágios de maturação pode ser melhor conhecido por meio de estudos de efeitos de secagem na germinabilidade e vigor e por meio de parâmetros bioquímicos, como por exemplo, produção de α -amilase e padrões de proteínas resistentes ao calor tipo LEA, que informarão se as sementes já adquiriram tolerância à dessecação, o que fornecerá subsídios adicionais às tomadas de decisões a respeito da época de colheita e secagem de sementes de milho em espigas.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi de avaliar a germinabilidade e tolerância à dessecação de sementes de milho colhidas em diferentes estágios de linha de leite e submetidas à secagem artificial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram realizados no laboratório de análise de sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em parceria com a empresa Monsanto do Brasil S.A., que forneceu as sementes dos híbridos, produzidas no período de junho de 2000 a março de 2001.

2.1 Produção, colheita e secagem das sementes

Foram utilizadas sementes dos híbridos simples AG-9010 e AG-9090, do híbrido triplo DKB-350 e do híbrido duplo DKB-747, colhidas em campos de produção de cooperados, respectivamente, nos municípios de Iraí de Minas – MG (semeadura em 15/02), Campo Florido – MG (semeadura em 07/04), Miguelópolis - SP (semeadura em 03/04) e Guaíra – SP (semeadura em 05/04).

Em cada campo de produção, foram demarcadas 4 faixas nas linhas do parental feminino com aproximadamente 3000 plantas, que constituíram 4 repetições de campo, onde foram colhidas 100 espigas para cada estágio de linha de leite (LL).

Os estádios da linha de leite foram identificados por meio da inspeção visual, com base na amostragem de 6 sementes retiradas da parte mediana de 5 espigas obtidas de plantas em competição completa e sadias. Cada semente foi cortada longitudinalmente e de uma das metades foi retirada toda a parte leitosa e o embrião. Pela comparação com a metade intacta, estimou-se a porcentagem de endosperma solidificado.

A colheita das sementes foi iniciada no estágio 2 de linha de leite (LL-2), de acordo com a metodologia proposta por Hunter et al. (1991):

- LL-2 - 25% do comprimento da semente preenchido com endosperma solidificado; linha de leite localizada no quarto superior do comprimento da semente.
- LL-3 - 50% do endosperma sólido; linha de leite localizada na metade do comprimento da semente.
- LL-4 - 75% do comprimento da semente com endosperma solidificado; linha de leite localizada no quarto inferior da semente.
- LL-5 - Endosperma completamente sólido; linha de leite ausente.

As espigas colhidas manualmente nos campos de produção de sementes foram transportadas até o laboratório de análise de sementes da UFLA embaladas em lona isolante térmica, onde foram imediatamente amostradas para determinação de teor de água. Em seguida, 10 espigas de cada repetição foram despalhadas e debulhadas manualmente para realização da avaliação da qualidade fisiológica por meio dos testes de germinação, teste de frio, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica e da atividade de α -amilase e determinação de proteínas LEA, sendo que, para essa, os eixos embrionários das sementes foram extraídos e congelados, até o momento da realização das análises.

As espigas restantes de cada repetição foram despalhadas e levadas aos secadores experimentais de pequena escala, construídos com base no modelo descrito por Navratil & Burris (1982). As sementes foram secadas em temperatura inicial de 35°C até atingirem 20% de teor de água, seguida de temperatura de 42°C até 12% de teor de água, segundo proposta de Rosa (2000). Em seguida, foram debulhadas a mão, acondicionadas em sacos de papel e estocadas em câmara fria e seca (10°C e 40% UR) até a realização das avaliações, após a secagem.

2.2 Características avaliadas

A determinação do teor de água, o teste de germinação, o teste de frio, o teste de envelhecimento acelerado e o teste de condutividade elétrica foram realizados de acordo com as metodologias descritas no capítulo 2.

2.2.1 Atividade de α -amilase

Para a determinação da atividade da enzima α -amilase, 25 sementes de cada repetição, correspondente a cada linha de leite foram colocadas para germinar como no teste padrão de germinação. Após 70 horas, as plântulas e sementes foram retiradas (Rood & Larsen, 1988), liofilizadas, trituradas a frio em moinho refrigerado e armazenadas em freezer a -81°C , até o momento das análises. A extração da enzima foi processada pela adição de 200 μl de tampão de extração Tris-HCl, 0,2Mol.L⁽⁻¹⁾, pH 8,0 a 100mg do pó relativo a cada tratamento. O homogenizado foi mantido por 12 horas em geladeira a uma temperatura de 5°C. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 16000xg a 4°C, por 60 minutos. Volumes de 40 μl do extrato proteico foram aplicados aos géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador- contendo amido) e 4,5% (gel concentrador). O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi o Tris-Glicina pH 8,9.

As corridas eletroforéticas foram efetuadas a 12mA no gel concentrador e 24mA no gel separador. Os géis foram revelados para o sistema α -amilase, em solução tampão de acetato de sódio 50mMol.L⁽⁻¹⁾, pH 5,6 e solução de iodo 10mMol.L⁽⁻¹⁾, contendo 14mMol.L⁽⁻¹⁾ de iodeto de potássio, segundo Alfenas (1998). Após o tratamento com iodo, observaram-se as bandas claras em fundo azulado (revelação negativa), devido à sua reação com a amilose.

2.2.2 Análise eletroforética de proteínas resistentes ao calor

Para a análise eletroforética de proteínas resistentes ao calor, eixos embrionários de seis sementes por repetição foram extraídos em cada estágio de linha de leite antes e após secagem das sementes de cada híbrido, imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -81°C até o momento da extração proteica.

Para facilitar a extração de eixos embrionários de sementes secas, essas foram embebidas em água por um período de cinco horas. No momento da extração proteica, 12 eixos embrionários de sementes em cada estágio de linha de leite foram moídos por um minuto e quinze segundos em mortar sobre gelo, na presença de solução tampão (50mM tris-HCL-7,5; 500mM NaCL; 5mM MgCl₂; 1mM PMSF) na proporção de 1:10 (peso do material: volume tampão de extração), e transferidos para microtubos de capacidade de 1500 μL . Os homogeneizados foram centrifugados a 16000xg por 30 minutos, a 4°C , e o sobrenadante foi incubado em banho-Maria a 85°C por 15 minutos e novamente centrifugado, como referido acima. O sobrenadante foi vertido em microtubos e o pellet, descartado. Antes da aplicação no gel, os tubos de amostras contendo 70 μL de extrato + 40 μL de solução tampão da amostra (2,5mL de glicerol; 0,46g de SDS; 20mg de azul Bromofenol e completado o volume para 20mL de tampão de extração Tris pH 7,5) foram colocados em banho-maria com água em ebulição por 5 minutos (adaptado de Blackman et al., 1991). Foram aplicados 50 μL do extrato com proteínas LEA + tampão da amostra por canaleta, em gel de poliacrilamida SDS-PAGE a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). A corrida eletroforética foi realizada a 150V e os géis corados em Coomassie Blue a 0,05% conforme Alfenas et al. (1991), durante 12 horas e descorados em solução de ácido acético 10%.

2.3 Delineamento experimental

Utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2000), foram realizadas análises de variância para os testes de avaliação da qualidade fisiológica para cada híbrido. O delineamento experimental para todas as avaliações foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2 (antes e após secagem) x 4 (estádios de linha de leite), com 4 repetições. Para as comparações de médias, foi utilizado o Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de água em que foram colhidas as sementes nos quatro estádios de linha de leite para os quatro híbridos variaram de 48,5% a 55,1% na LL-2 (linha de leite 2), 41,1 a 50,1% na LL-3 (linha de leite 3); 35,5 a 42,0% na LL-4 (linha de leite 4) e 27,3 a 32,0% na LL-5 (linha de leite 5) (Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4).

Foram observadas diferenças significativas para a interação secagem x estádios de linha de leite para todos os testes realizados para os quatro híbridos. Os resumos das análises de variância estão apresentados nas tabelas 5A a 8A.

Pelos resultados dos testes de germinação realizados em sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite e não submetidas à secagem, observou-se para todos os híbridos, que à medida que o teor de água das sementes diminuía, a porcentagem de germinação aumentava, sendo que, essa se manteve baixa enquanto as sementes se encontravam com teores de água acima de 35%, ou não haviam atingido o estágio 5 de linha de leite (LL-5) (Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4). Para essas sementes, considerando todos os híbridos, a porcentagem de germinação no estágio LL-5 ficou acima de 75%. Esse fato comprova que a perda de água natural que ocorre no campo prepara as sementes para a germinação quando forem reidratadas. Nos testes realizados com as sementes correspondentes aos estádios de linha de leite 2, 3 e 4, as quais não apresentaram germinação ou essa foi inexpressiva, pode-se constatar que as sementes encontravam-se completamente embebidas, sem estarem mortas, sugerindo que o aparato necessário ao processo de germinação não encontrava-se ainda adequadamente ativado. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Kermode et al. (1986) e Bewley et al. (1989), os quais sugerem

que a redução de água das sementes induz a uma mudança do programa de desenvolvimento para o de germinação e crescimento.

Quando se realizou a secagem das sementes inicialmente a 35°C até atingirem 20% de teor de água, e posteriormente a 42°C, até atingirem 12%, observou-se que a porcentagem de germinação das sementes colhidas em todos os estádios de linha de leite foi superior a 95% (Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4). Para os híbridos DKB-350, DKB-747 e AG9010, não houve diferença estatística nos valores de germinação das sementes nos diferentes estádios de linhas de leite, o que ocorreu para o híbrido AG-9090, o qual foi colhido com teores de água de 55,10% e 50,10%, respectivamente na LL-2 e LL-3.

Observa-se que as sementes colhidas com altos teores de água e submetidas à secagem inicial em temperaturas moderadas são passíveis de germinar quando reidratadas, e que o teor de água no momento da colheita é importante para determinar a tolerância à secagem artificial.

A secagem moderada em estádios iniciais do desenvolvimento provoca o redirecionamento do metabolismo, suprimindo a síntese de proteínas associadas ao desenvolvimento e estimulando a síntese de proteínas associadas à germinação (Kermode & Bewley, 1985). No entanto, as sementes se tornam tolerantes à dessecação em um estádio particular do seu desenvolvimento, o que, de acordo com Kermode & Bewley (1989), é variável com a espécie e cultivar. Rosa (2000) trabalhando com milho, verificou que a secagem lenta artificial após a maturidade fisiológica promove as mudanças necessárias à aquisição de germinabilidade.

As análises eletroforéticas da enzima α -amilase realizadas para as sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, para os quatro híbridos (Figura 3.1), reforçam os resultados obtidos nos testes de germinação. As sementes, antes da secagem, apresentaram aumento no número de bandas

proporcionalmente à diminuição do teor de água, observando-se, para todos os híbridos, maior número de bandas na LL-5. Após secagem, o número de bandas foi idêntico para as sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite em todos os híbridos.

TABELA 3.1. Resultados médios de teores de água, dos testes germinação e vigor de sementes do híbrido AG9090, colhidas nos quatro estádios de linha de leite, no inverno de 2000 antes e após secagem das sementes. UFPA, Lavras- MG, 2003.

| Estádios | Teor de água | AG 9090 | | | | | | | | | | | |
|----------|--------------|----------------|--------------|------------------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|--|--|--|--|
| | | Germinação (%) | | Cond. Elétrica. (µmhos/cm/g) | | Teste de Frio (%) | | Env. Acelerado (%) | | | | | |
| | | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | | | | |
| LL-2 | 55,10 A | 0,0 B | 96,0 B | 9,06 A | 24,15 A | 2,0 D | 84,0 B | 10,0 C | 96,0 A | | | | |
| LL-3 | 50,10 B | 0,0 B | 98,0 B | 6,90 AB | 16,21 B | 39,0 C | 87,0 B | 49,0 B | 98,0 A | | | | |
| LL-4 | 42,00 C | 2,0 B | 100,0 A | 5,50 BC | 9,19 C | 63,0 B | 98,0 A | 96,0 A | 99,0 A | | | | |
| LL-5 | 28,30 D | 98,0 A | 100,0 A | 4,08 C | 4,93 D | 89,0 A | 98,0 A | 100,0 A | 100,0 A | | | | |

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

TABELA 3.2. Resultados médios de teores de água, dos testes germinação e vigor de sementes do híbrido DKB-350, colhidas nos quatro estádios de linha de leite, no inverno de 2000 antes e após secagem das sementes. UFLA, Lavras- MG, 2003.

| Estádios | Teor de água | Germinação (%) | | Cond. Elétrica. (µmhos/cm/g) | | Teste de Frio (%) | | Env. Acelerado (%) | |
|----------|--------------|----------------|--------------|------------------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem |
| | | DKB-350 | | DKB-350 | | DKB-350 | | DKB-350 | |
| LL-2 | 52,30 A | 4,0 B | 98,0 A | 9,44 A | 16,36 A | 18,0 C | 86,0 B | 4,0 D | 96,0 A |
| LL-3 | 48,50 B | 6,0 B | 100,0 A | 7,45 B | 9,03 B | 30,0 B | 95,0 A | 22,0 C | 99,0 A |
| LL-4 | 35,50 C | 8,0 B | 100,0 A | 5,82 B | 6,86 C | 67,0 A | 95,0 A | 84,0 B | 99,0 A |
| LL-5 | 27,30 D | 78,0 A | 100,0 A | 4,21 C | 4,31 D | 76,0 A | 97,0 A | 99,0 A | 100,0 A |

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

TABELA 3.3. Resultados médios de teores de água, dos testes germinação e vigor de sementes do híbrido DKB-747, colhidas nos quatro estádios de linha de leite, no inverno de 2000 antes e após secagem. UFPA, Lavras-MG, 2003.

| Estádios | Teor de água | Germinação (%) | | Cond. Elétrica. (µmhos/cm/g) | | Teste de Frio (%) | | Env. Acelerado (%) | |
|----------|--------------|----------------|--------------|------------------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem |
| | | | | | | | | | |
| LL-2 | 48,50 A | 4,0 C | 99,0 A | 7,06 A | 12,69 A | 58,0 B | 98,0 A | 1,0 C | 91,0 B |
| LL-3 | 41,10 B | 5,0 C | 100,0 A | 4,77 B | 8,11 B | 37,0 B | 99,0 A | 78,0 B | 97,0 AB |
| LL-4 | 36,20 C | 19,0 B | 100,0 A | 4,34 B | 5,81 C | 78,0 A | 99,0 A | 92,0 AB | 98,0 A |
| LL-5 | 30,30 D | 88,0 A | 100,0 A | 3,54 B | 5,37 C | 86,0 A | 97,0 A | 99,0 A | 99,0 A |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 3.4. Resultados médios de teores de água, dos testes germinação e vigor de sementes do híbrido AG-9010, colhidas nos quatro estádios de linha de leite, no inverno de 2000 antes e após secagem. UFLA, Lavras-MG, 2003.

| Estádios | Teor de água | Germinação (%) | | Cond. Elétrica. (µmhos/cm/g) | | Teste de Frio (%) | | Env. Acelerado (%) | |
|----------|--------------|----------------|--------------|------------------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem | Antes secagem | Após secagem |
| | | | | | | | | | |
| LL-2 | 52,10 A | 3,0 C | 97,0 A | 7,92 A | 21,13 A | 30,0 C | 81,0 B | 36,0 C | 85,0 B |
| LL-3 | 41,30 B | 19,0 B | 99,0 A | 6,93 AB | 13,49 B | 74,0 B | 99,0 A | 60,0 B | 99,0 A |
| LL-4 | 37,30 C | 65,0 A | 100,0 A | 4,81 BC | 9,24 C | 92,0 A | 99,0 A | 96,0 A | 98,0 A |
| LL-5 | 32,00 D | 75,0 A | 100,0 A | 4,50 C | 7,96 C | 97,0 A | 98,0 A | 98,0 A | 97,0 A |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

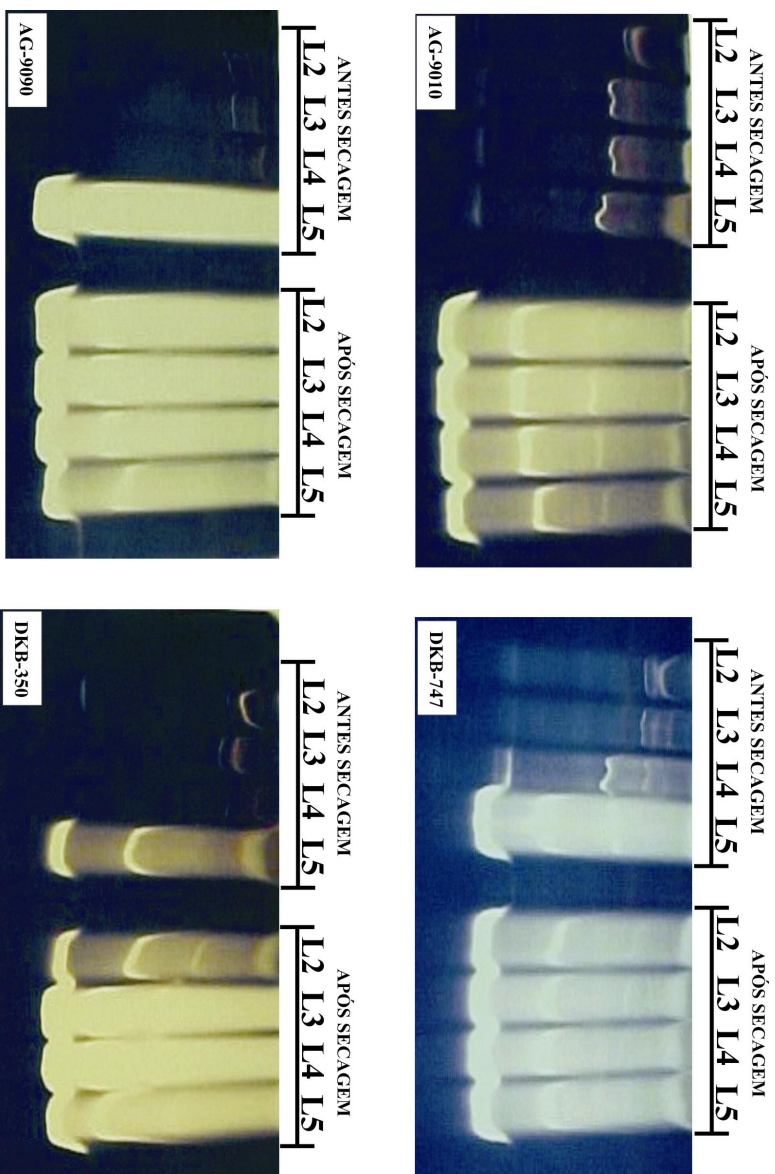


FIGURA 3.1. Padrão eletroforético da enzima α -amilase em plântulas dos híbridos AG-9010, DKB-747, AG-9090 e DKB-350, cujas sementes foram colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, antes e após secagem. L2, L3, L4 E L5 são estádios com 25%, 50% 75% e 100% de endosperma endurecido, respectivamente. UFLA- Lavras- MG, 2003.

A secagem no campo e a artificial proporcionaram aumento na atividade da enzima α -amilase, o que propiciou maior germinação das sementes, sugerindo que a perda de água concorreu para que a camada de aleurona se tornasse mais sensível ao ácido giberélico, com subsequente produção das enzimas necessárias à germinação e ao crescimento das plântulas. Esses resultados estão de acordo com os de outros autores (Armstrong et al., 1982), que demonstraram que sementes de trigo devem atingir um teor de água de 25% para que ocorra a síntese de α -amilase. Para os híbridos DKB-747, AG-9090 e DKB-350, a síntese completa de α -amilase ocorreu, respectivamente, a 30,3%, 28,3% e 27,3% de teor de água.

Trabalhando com sementes de milho, Oishi & Bewley (1990) concluíram que a secagem prematura ou logo após a maturidade fisiológica causa o declínio de ácido abscísico e permite que a camada de aleurona torne-se sensível ao ácido giberélico, produzindo as enzimas α -amilase. Essas enzimas são secretadas no amido contido no endosperma, onde a degradação hidrolítica ocorre e a glicose formada é então transportada para as partes da plântula em crescimento (Guimarães, 1999).

Nos testes de envelhecimento acelerado realizados antes da secagem foram observados valores percentuais superiores aos observados nos testes de germinação (Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4). Provavelmente, as condições em que são realizados os testes de envelhecimento (temperatura de 42°C e alta umidade) tenham provocado a lixiviação e reduzido o conteúdo de ácido abscísico, produzindo um efeito semelhante ao da secagem, sendo que esse efeito aumentou com a diminuição do teor de água das sementes. Outra possibilidade é a de que o estresse do teste tenha provocado aumento de ácido giberélico, induzindo a produção de α -amilase. Sementes no estágio LL-5 apresentaram

valores acima de 99% de plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado, para todos os híbridos.

Resultados semelhantes foram encontrados no teste de frio realizado em sementes antes da secagem. Nesse caso, a diminuição do conteúdo de ácido abscísico pode ser atribuído à baixa temperatura (10°C) utilizada nesse teste. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores (Oishi & Bewley, 1990 e Rosa, 2000).

Após a secagem, foram observados valores de vigor pelo teste de envelhecimento acelerado acima de 85%, os quais não diferiram estatisticamente entre as sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, para os híbridos AG-9090 e DKB-350 (Tabelas 3.1 e 3.2). No entanto, esses valores diferenciaram estatisticamente as sementes dos híbridos DKB-747 e AG-9010 colhidas na LL-2, que apresentaram menores valores que as colhidas nas demais linhas de leite (Tabelas 3.3 e 3.4).

Sementes após a secagem, submetidas ao teste de frio, também apresentaram valores de vigor acima de 83%, sendo que as colhidas no estádio LL-2 apresentaram-se com menor vigor quando comparadas às colhidas nas demais linhas de leite, para todos os híbridos. Por meio desses testes foi observado que após a secagem, as sementes colhidas a partir do estádio LL-3 apresentaram-se com alto vigor.

Vários autores observaram alta qualidade fisiológica em sementes de milho colhidas antecipadamente em relação ao máximo acúmulo de matéria seca (Vieira et al., 1995; Borba et al., 1995; Tekrony & Hunter, 1995; Ajayi & Fakorede, 2000).

Vieira et al. (1995) concluíram que a colheita de sementes de milho poderia ser realizada entre os estádios 3 e 4 de linha de leite, sem perda de qualidade fisiológica. Também, Borba et al. (1995) sugeriram antecipar a

colheita em 14 dias da maturidade fisiológica, uma vez que foram observados altos valores de vigor das sementes nesse estágio, mesmo antes de as sementes atingirem o máximo peso seco.

Em seus estudos com linhagens, híbridos simples e duplos, Tekrony & Hunter (1995) encontraram o máximo nível de vigor no estágio 4 de linha de leite, antes do completo enchimento das sementes, para todos os genótipos.

Para os testes de condutividade elétrica (Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4), pode-se observar tendência de valores menores em sementes não submetidas à secagem. Esses valores variaram de 3,54 $\mu\text{mhos/cm/g}$ em sementes não secadas, colhidas na LL-5, a 9,44 $\mu\text{mhos/cm/g}$ nas colhidas na LL-2; e nas secadas, de 4,31 $\mu\text{mhos/cm/g}$ nas colhidas na LL-5 a 24,15 $\mu\text{mhos/cm/g}$ nas colhidas na LL-2. No entanto, em ambos os casos, à medida que os estágios de linha de leite avançaram, houve redução nos valores de condutividade. Este padrão de variação nos valores de condutividade elétrica também foi encontrado por Powell (1986) e Fagioli & Vieira (2000).

Com o avanço dos estágios de maturação vai ocorrendo o desenvolvimento e organização estrutural das membranas celulares, o que explica a redução nos valores de condutividade elétrica. Como os mecanismos de proteção de membranas para a tolerância à dessecação, como proteínas tipo Lea e açúcares, são acumulados nas fases finais da maturação, as sementes em estágios mais avançados são mais tolerantes à secagem, apresentando membranas mais estruturadas.

A secagem natural ou artificial promove a estruturação de membranas. Porém, a secagem natural parece ser menos danosa para o sistema de membranas do que a artificial. Segundo Rosa et al. (2000), existem danos em sistemas de membranas associados à secagem artificial. Além disso, sementes secas frequentemente sofrem uma extensiva lixiviação de solutos quando

embebidas rapidamente, devido à transição de fase gel para líquido cristalino dos fosfolipídios da membrana, durante a hidratação (Crowe et al., 1989). Seyedin & Burris (1984) encontraram um aumento significativo das quantidades de eletrólitos e açúcares lixiviados de sementes secadas a altas temperaturas, em comparação com sementes secas a baixas temperaturas.

Nesse trabalho, a perda de vigor provocada pelas alterações em membranas com a secagem das sementes, não foi detectada pelos testes de frio e de envelhecimento acelerado (Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4). Entretanto, pelo teste de condutividade elétrica foi possível verificar que o vigor é adquirido progressivamente à medida que o endosperma vai se solidificando.

Os perfis eletroforéticos de proteínas do tipo LEA, extraídas pelo calor das sementes colhidas nos quatro estádios de linha de leite, para os quatro híbridos antes e após secagem, são apresentados na Figura 2.2. Analisando os padrões de bandas apresentados, fica evidente a ausência de algumas bandas e menor intensidade de outras nos estádios iniciais de linha de leite, até LL-3, nas sementes de todos os híbridos, não submetidas à secagem. Porém, o padrão de bandas foi idêntico para as sementes colhidas nos quatro estádios de linha de leite, após a secagem. Essas diferenças nas proteínas tolerantes ao calor são coincidentes com as variações fisiológicas observadas nos testes de germinação e vigor, indicando o aumento de tolerância à dessecação a partir do estágio LL-3, quando as bandas dessa proteína se tornam coincidentes com as bandas após secagem.

Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Blackman et al. (1991) e Black et al. (1999), que apresentaram evidências de que diversas proteínas tipo LEA são acumuladas durante a secagem de maturação, e que suas propriedades físicas de estabilidade e hidrofobicidade e sua abundância lhe

sugerem um importante papel na tolerância à dessecação em organismos que toleram a perda de água, como é o caso de sementes ortodoxas.

Ficou evidenciado também o fato de a secagem induzir o aparecimento de bandas dessa proteína em sementes colhidas com altos teores de água, o que corrobora os resultados observados por Herter & Burris (1989), que sugeriram que a secagem inicial de sementes de milho a baixas temperaturas acelera o processo de maturação que normalmente ocorre no campo com a desidratação natural, permitindo que os mecanismos de tolerância à dessecação se tornem ativos.

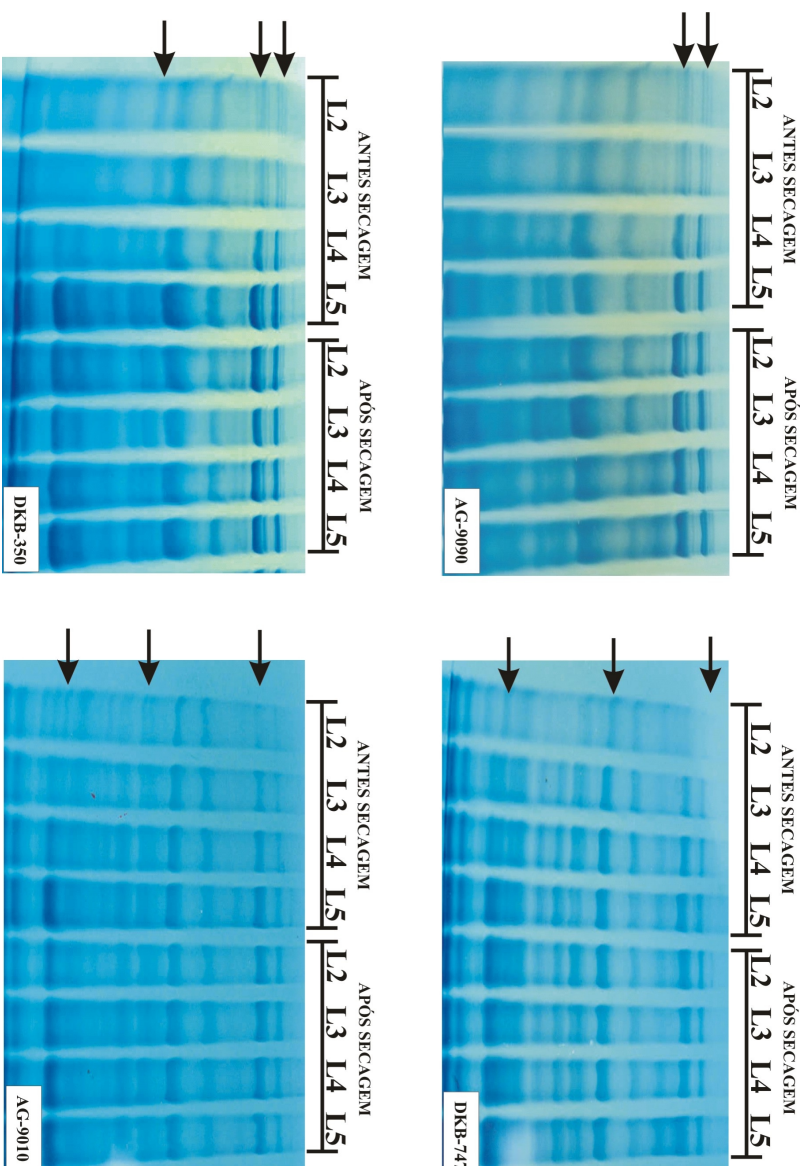


FIGURA 3.2. Padrões eletroforéticos de proteínas tolerantes ao calor de eixos embrionários de sementes de milho dos híbridos AG-9090, DKB-747, DKB-350 e AG-9010, colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, antes e após secagem . L2, L3, L4 e L5 indicam estádios com 25%, 50% 75% e 100% de endosperma endurecido, respectivamente. Setas indicam bandas diferentes ou ausentes. UFLA- Lavras- MG, 2003.

Os resultados do presente trabalho fornecem subsídios adicionais à tomada de decisão com relação à colheita de sementes de milho híbrido com altos teores de umidade e sua posterior secagem. Ficou evidenciado que a germinabilidade de sementes, medida pelo teste de germinação e confirmada por análise eletroforética de enzimas α -amilase, aumenta com a perda de água natural a campo e é obtida integralmente por meio de uma secagem à temperatura moderada para sementes colhidas a partir da linha de leite 3 (LL-3). Esse é o estágio a partir do qual se obteve sementes com alta qualidade fisiológica e coincidiu com o aumento no número de bandas de proteínas tolerantes ao calor, indicando o provável final da fase da aquisição de tolerância à dessecação para os híbridos estudados.

4 CONCLUSÕES

A germinabilidade de sementes de milho aumenta com a perda de água natural no campo e é obtida integralmente por meio de uma secagem à temperatura inicial moderada para sementes colhidas a partir do estágio de linha de leite 3 (LL-3).

Sementes colhidas a partir do estágio de linha de leite 3 (LL-3) apresentam alta qualidade fisiológica.

O provável final da fase de aquisição de tolerância à dessecação em sementes de milho ocorre a partir do estágio 3 de linha de leite (LL-3).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJAYI, S. A.; FAKOREDE, M. A. B. Physiological maturity effects on seed quality, seedling vigour and mature plant characteristics of maize in a tropical environment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 2, p. 301-319, 2000.
- ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.
- ARMSTRONG, C.; BLACK, M.; CHAPMAN, J. M.; NORMAN, H. E.; ANGOLD, R. The induction of sensitivity to gibberellin in aleurone tissue of developing wheat grains. I. The effect of dehydration. **Planta**, Berlin, v. 154, n. 6, p. 573-577, 1982.
- BEWLEY, J. D. Physiological aspects of desiccation tolerance. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 30, p. 195-238, 1979.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds** - physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BEWLEY, J. D.; KERMODE, A. R.; MISRA, S. Desiccation and minimal drying treatments of seeds of castor bean and *Phaseolus vulgaris* which terminate development and promote germination cause changes in protein and messenger RNA syntheses. **Annals of Botany**, London, v. 63, n. 1, p. 3-17, Jan. 1989.
- BLACK, M.; CORBINEAU, F.; GEE, H. CÔME, D. Water content, raffinose, and dehydrins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, n. 2, p. 463-471, June 1999.
- BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant physiology**, Rockville, v. 96, n. 3, p. 868-874, July 1991.

BORBA, C. B.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.) produzidas no inverno. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 129-132, 1995.

CROWE, J. H. CROWE, L. M.; HOEKSTRA, F. A. Phase transitions and permeability changes in dry membranes during rehydration. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, New York, v. 21, n. 1, p. 77-91, Feb. 1989.

FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D. Avaliação do desenvolvimento de sementes de milho (milk line) pelo teste de condutividade elétrica e lixiviação de nutrientes da solução de embebição. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2000, Uberlândia. **Resumos...** Sete Lagoas: ABMS/Emprapa Milho e Sorgo/Universidade Federal de Uberlândia, 2000. p. 284.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análise estatística – SISVAR**. Lavras – MG: UFLA-DCE, 2000.

GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1999. 132 p. (Curso de Especialização Pós-Graduação “Latu Sensu” por Tutoria à Distância).

HAN, B.; HUGHES, W. D.; GALAU, G. A.; BEWLEY, J. D.; KERMODE, A. R. Changes in late-embryogenesis-abundant (LEA) messenger RNAs and dehydrins during maturation and premature drying of *Ricinus communis* L. seeds. **Planta**, Berlin, v. 201, n. 1, p. 27-35, Feb. 1997.

HERTER, U. BURRIS, J. S. Preconditioning reduces the susceptibility to drying injury in corn seed. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, p. 775-789, 1989.

HUNTER, J. L.; TEKRONY, D. M.; MILES, D. F.; EGLI, D. B. Corn seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilate. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 5, p. 1309-1313, Sept./Oct. 1991.

KERMODE, A. R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 75-95, June 1997.

KERMODE, A. R. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: KIGEL, J. L.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 273-332.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D. Development seeds of *Ricinus communis* L. when detached and maintained in a atmosphere of high relative humidity, switch to a germinative mode without the requirement for complete desiccation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, n. 3, p. 702-707, Sept. 1989.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D. The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. I. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 36, n. 173, p. 1906-1915, Dec. 1985.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D.; DASGUPTA, J.; MISRA, S. The transition from seed development to germination: a key role for desiccation? **Hort Science**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1113-1119, Oct. 1986.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. Small-scale dryer designer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 1, p. 159-161, Jan./Feb. 1982.

OISHI, M. Y.; BEWLEY, J. D. Distinction between the responses of developing maize kernels to fluridone and desiccation in relation to germinability, α -amylase activity, and abscisic acid content. **Plant Physiology**, Rockville, v. 94, n. 2, p. 592-598, Oct. 1990.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Mar. 1999.

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

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

ROSA, S. D. V. F.; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho (*Zea mays*). **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 54-63, 2000.

SANHEWE, A. J.; ELLIS, R. H. Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris*. I. Ability to Germinate and to tolerate desiccation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, n. 300, p. 949-958, July 1996.

SEYEDIN, N.; BURRIS, J. S. Physiological studies on the effects of drying temperatures on corn seed quality. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, n. 3, p. 497-504, 1984.

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 857-862, May/June 1995.

THOMANN, E. B.; SOLLINGER, J.; WHITE, C.; RIVIN, C. J. Accumulation of group3 late embryogenesis abundant proteins in *Zea mays* embryos. Roles of abscisic acid and the viviparous-1 gene product. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, n. 2, p. 607-614, June 1992.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J. L.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VIEIRA, R. D.; MINOHARA, L.; CARVALHO, N. M.; BERGAMASCHI, M. C. M. Relationship of black layer and milk line development on maize seed maturity. **Siencia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 142-147, Jan./Mar. 1995.

CAPÍTULO 4

EFEITO DE ÉPOCAS DE SEMEADURA E DE COLHEITA NA QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO

RESUMO

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. Efeito de épocas de semeadura e de colheita na qualidade de sementes de milho. In: _____ **Maturação de sementes de milho: aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos**. Lavras: UFLA, 2003. p.88-118. Tese (Doutorado Em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Para avaliar a qualidade e características físicas do desenvolvimento de sementes de dois híbridos de milho produzidas em duas épocas de semeadura, antes e após o armazenamento, utilizando como base os estádios de “linha de leite”, foi realizado o presente trabalho no laboratório de sementes da UFLA, em parceria com a Monsanto do Brasil SA. Foram utilizadas sementes dos híbridos AG-9090 e DKB-350 produzidas no outono/inverno de 2000 e primavera/verão de 2000/2001. Em cada campo de produção foram demarcadas 4 faixas onde foram colhidas 100 espigas por estádio de linha de leite (LL), que são: LL2, LL3, LL4 e LL5, contemplando, respectivamente, 25%, 50%, 75% e 100% de endosperma endurecido. As espigas foram transportadas até o laboratório de sementes, onde foram amostradas para determinação do teor de água das sementes; em seguida despalhadas e levadas aos secadores experimentais, onde foram secadas em temperatura inicial de 35°C até atingirem 20% de grau de umidade, seguida de temperatura de 42°C até 12%. Foram realizados testes de germinação, primeira contagem, condutividade elétrica, teste de frio sem solo, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e envelhecimento acelerado, após secagem e após oito meses de armazenamento. Para o híbrido AG-9090, semeado no inverno, a colheita e armazenamento das sementes são mais seguros se forem feitos a partir do estádio de linha de leite 4 (LL4); porém, quando cultivado no verão, pode-se iniciar a colheita de sementes desse híbrido a partir da linha de leite 3 (LL3). Já para o híbrido DKB-350, em qualquer das duas épocas de semeadura as colheitas das sementes podem ser iniciadas a partir do estádio 3 de linha de leite (LL3), sem redução da qualidade durante o armazenamento.

¹ Comitê Orientador: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Orientador), Profª. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA e Prof. Renato Mendes Guimarães –UFLA.

ABSTRACT

FARIA, Maria Aparecida Vilela de Resende. Effect of sowing and harvest time on the quality of corn seeds. **In: _____ Maturation of corn seeds: physical, biochemical and physiological aspects.** Lavras: UFLA, 2003. p.88-118. (Thesis - Doctorate in Crop Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Aiming at to evaluate the quality and physical characters of seed development of two hybrids in two sowing time before and after storage, using the milk line stages, the present work was performed at UFLA Seed Laboratory in cooperation with Monsanto do Brasil S/A. Seeds of the hybrids AG-9090 and DKB-350 produced in the autumn/winter of 2000 and in the spring/summer of 2000/2001, in the towns of Iraí de Minas-MG and Guaira -SP were utilized. In each field, 4 rows were demarcated, from where 100 ears per milk line (ML) stage (ML2, ML3, ML4 and ML5) were harvested, containing, respectively, 25%, 50%, 75% and 100% of hardened endosperm. The ears were transported to the lab where they were sampled for determination of water content of seeds and next, they had their straws removed and were taken to the experimental dryers where they were dried at the initial temperature of 35°C to reach 20% of water content followed by temperature of 42°C to 12% of water content. Tests of germination, electric conductivity, cold test without soil, plantlet emergency and accelerated ageing were accomplished after drying and after eight month storage. For the hybrid AG-9090 sowed in the winter, the harvest and storage of seeds are safe, from the milk line 4 stage (ML4), but when sowed in the summer, the harvest may be initiated from the milk line 3 stage (ML3). For the hybrid DKB-350, sowed at both seasons, the harvest may be initiated from the ML3 stage, without loss of quality during storage.

¹ Guidance Committee: Prof. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA (Major Professor), Profa. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA and Prof. Renato Mendes Guimarães – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

As condições climáticas que ocorrem durante o processo de maturação e na pré-colheita de sementes influenciam em grande parte a qualidade final das sementes de milho. Assim, as empresas procuram instalar seus campos de produção em regiões e épocas que ofereçam as melhores condições para a obtenção de sementes com alta qualidade. O cultivo de uma mesma cultivar em uma determinada região, em várias épocas de semeadura, possibilita vantagens, sendo que a época de inverno, em locais com possibilidade de irrigação é apropriada para a obtenção de sementes de alta qualidade sanitária e fisiológica.

Visando a obtenção de várias safras por ano, a colheita antecipada de sementes de milho também traz uma série de vantagens, pois além de propiciar maior qualidade devido à menor exposição a condições ambientais adversas, permite melhor aproveitamento das áreas de plantio, pela possibilidade de desocupá-la mais cedo, e possibilita o planejamento dos processos de secagem, propiciando melhor aproveitamento da infra-estrutura de produção e de processamento.

A época de colheita pode ser determinada pelo acompanhamento de mudanças em características morfológicas e fisiológicas que ocorrem durante a maturação das sementes. Os parâmetros mais utilizados para sementes de milho são o teor de água e o aparecimento da camada negra na região do pedicelo. No entanto, esses métodos apresentam algumas limitações como indicadores ideais do momento de colheita (Afuakwa & Crookston, 1984). O teor de água das sementes pode sofrer influências ambientais e genéticas e não pode ser facilmente determinado no campo, requerendo o uso de equipamentos que não são confiáveis em teores de água acima de 25% (Daynard, 1972; Hunter et al., 1991).

A formação da camada negra é um indicador aceitável de maturidade fisiológica, indicando que o máximo peso seco da semente foi obtido. Entretanto, tem sido relatada a ocorrência de problemas associados ao seu uso para assegurar a maturidade fisiológica, tais como a variabilidade na aparência e imprecisão quanto ao momento de ocorrência, sendo reportada em teores de água de 15,4 a 75% (Afuakwa & Crookston, 1984; Afuakwa et al., 1984). Além disso, estresses ambientais como seca, dano por frio e doenças reduzem a capacidade da planta de produzir assimilados para as sementes, ocorrendo redução no período de enchimento e peso seco das mesmas, e precocidade no desenvolvimento da camada negra (Hunter et al., 1991).

Daynard (1972), reportou desenvolvimento diferenciado da camada negra para os mesmos híbridos de milho cultivados em épocas diferentes. Quando foram cultivados em maio, observou que a camada negra apareceu com teores de água entre 30 e 37%, já para a semeadura em junho, encontrou o desenvolvimento da camada negra com teores de água entre 39 a 42% , como consequência de baixas temperaturas ocorridas nessa última época.

A maturação de sementes de milho pode ser acompanhada também pela linha de leite. Durante o processo de maturação ocorre a progressiva solidificação do endosperma leitoso, devido à conversão da sacarose em amido, começando no ápice e terminando na base da semente. Nesse período, a linha de leite é uma camada externamente visível na face oposta ao embrião, que limita as matrizes sólida e líquida do endosperma. É considerado um método eficiente para monitorar a maturidade da semente por ser facilmente detectável no campo, sem necessidade de instrumentos e, ao contrário da camada negra, cujo desenvolvimento é o ponto final, o movimento da linha de leite pode ser acompanhado por um período de tempo maior.

Vários autores têm mostrado que para sementes de milho, a ocorrência de máxima germinação e vigor precede a maturidade fisiológica, definida como o ponto de máximo acúmulo de matéria seca (Borba et al. 1995; Tekrony & Hunter, 1995; Fessel et al., 2001). Borba et al. (1994) encontraram que a maturidade fisiológica do híbrido BR201, cultivado no verão em Sete Lagoas-MG, ocorreu aos 65 dias após a floração e que, para a produção de sementes de alta qualidade, a colheita poderia ser iniciada a partir do 55º dia após a floração, quando as sementes apresentavam cerca de 87% de germinação e 82% de vigor, medido pelo teste de envelhecimento acelerado, com 95% das sementes apresentando camada negra. Pelos mesmos experimentos, porém realizados no inverno (Borba et al., 1995), pôde ser observado que a maturidade fisiológica ocorreu aos 58 dias após a floração, e que sementes com alta qualidade poderiam ser colhidas 14 dias antes.

A determinação de quão mais cedo as sementes de milho podem ser retiradas do campo sem prejuízos de suas qualidades fisiológicas pode tornar-se mais eficiente e prática por meio do monitoramento da linha de leite. Uma vez que fatores ambientais influenciam o desenvolvimento e maturação de sementes, é interessante estudar o efeito de épocas de semeadura no uso dos estádios de linha de leite como marcador de maturação.

Avaliou-se a qualidade de sementes de dois híbridos de milho produzidas em duas épocas de semeadura e colhidas em diferentes estádios de maturação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção, colheita, secagem e armazenamento das sementes

Os trabalhos foram realizados no laboratório de análise de sementes da UFLA e as sementes foram colhidas em campos de produção de sementes de cooperados da empresa Monsanto do Brasil S.A. Foram utilizados os híbridos AG-9090 (híbrido simples), produzido no outono/inverno de 2000 (semeadura em 15/02) e primavera/verão 2000/2001 (semeadura em 20/09), no município de Iraí de Minas-MG, e DKB-350 (híbrido triplo), produzido no outono/inverno de 2000 (semeadura em 05/04), e primavera/verão 2000/2001 (semeadura em 08/09), em Guaira -SP.

Os campos foram conduzidos sob irrigação por pivot central e a adubação aplicada na semeadura foi de 350 kg/ha da fórmula 08-20-20, com cobertura parcelada, sendo a primeira realizada quando as plantas apresentavam-se com cinco folhas expandidas, com 200 kg/ha de 20-00-20, e a segunda com 140 kg/ha de uréia, quando as plantas apresentavam-se com oito folhas expandidas. Os demais tratos culturais foram realizados segundo as recomendações para a cultura. As condições climáticas ocorridas em Iraí de Minas e Guaira, durante o período de cultivo, estão apresentadas nas Figuras 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4.

Em cada campo de produção, foram demarcadas quatro faixas nas linhas do parental feminino, com aproximadamente 3000 plantas, que constituíram 4 repetições de campo, onde foram colhidas 100 espigas para cada estágio de linha de leite (LL). Os estágios de linha de leite foram identificados por meio da inspeção visual, com base na amostragem de seis sementes retiradas da parte mediana de cinco espigas obtidas de plantas sadias em competição completa. Cada semente foi cortada longitudinalmente e de uma das metades foi retirada

toda a parte leitosa e o embrião. Pela comparação com a metade intacta, estimou-se a porcentagem de endosperma solidificado.

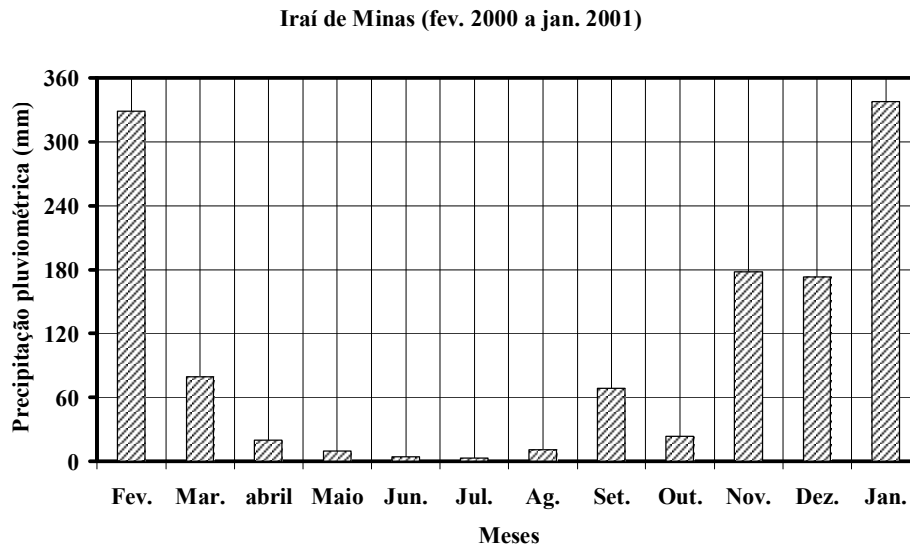


FIGURA 4.1. Precipitação pluviométrica média (mm) ocorrida na região de Iraí de Minas - MG durante os plantios de outono/inverno e primavera/verão do híbrido AG-9090. UFLA, Lavras -MG, 2003.

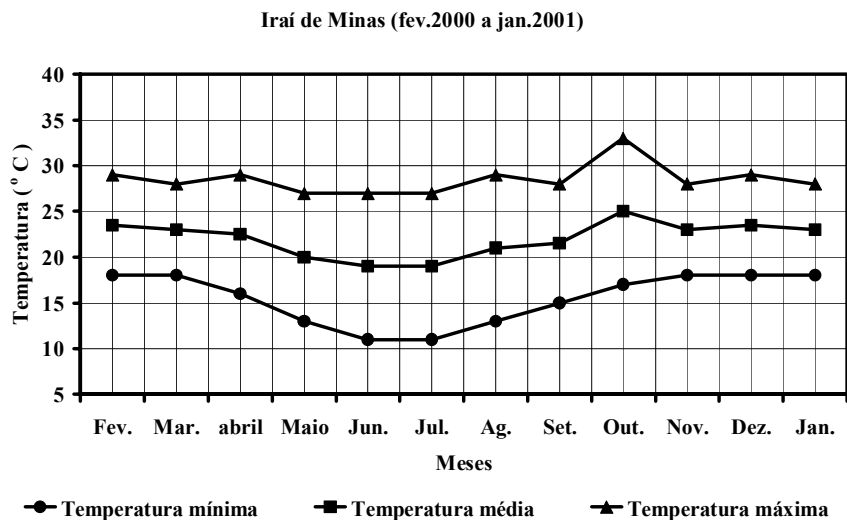


FIGURA 4.2. Temperaturas máximas, médias e mínimas ocorridas na região de Iraí de Minas-MG durante os plantios de outono/inverno e primavera/verão do híbrido AG-9090. UFLA, Lavras –MG, 2003.

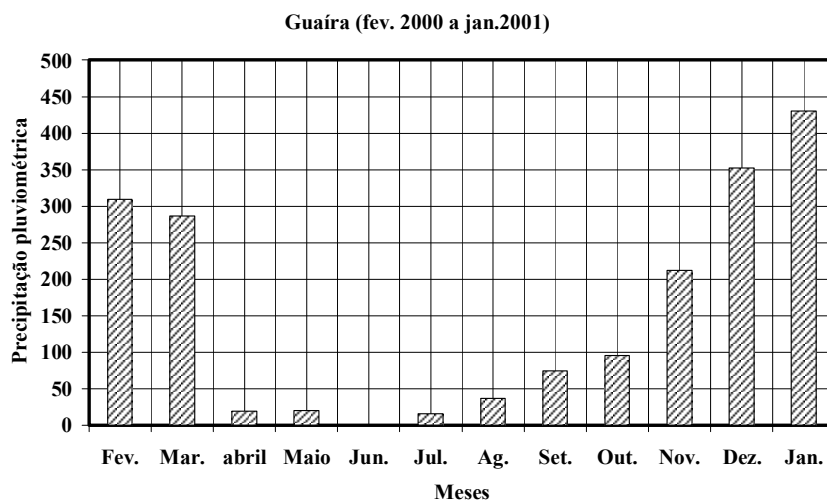


FIGURA 4.3. Precipitação pluviométrica (mm) média ocorrida na região de Guaíra – SP durante os plantios de outono/inverno e primavera/verão do híbrido DKB-350. UFLA, Lavras –MG, 2003.

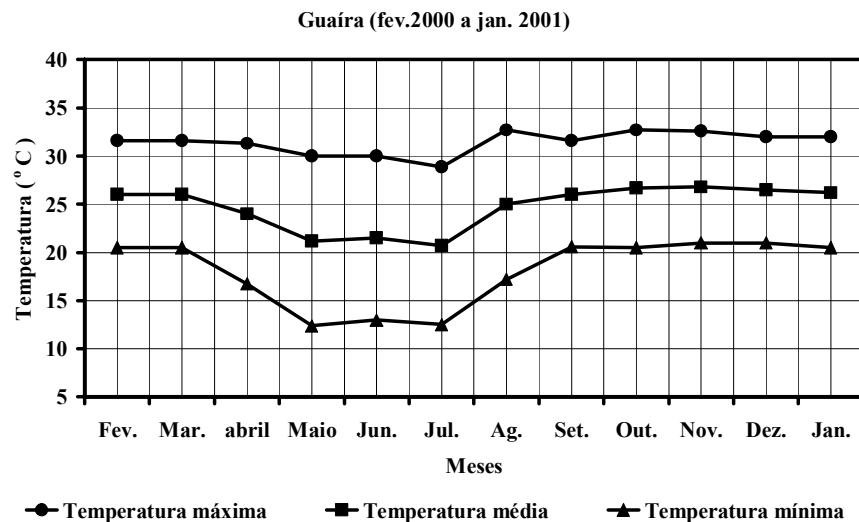


FIGURA 4.4. Temperaturas máximas, médias e mínimas ocorridas na região de Guaíra – SP durante os plantios de outono/inverno e primavera/verão do híbrido DKB-350. UFLA, Lavras –MG, 2003.

As amostragens de sementes foram iniciadas no estágio 2 de linha de leite (LL-2), de acordo com a metodologia proposta por Hunter et al. (1991):

- LL-2 - 25% do comprimento da semente preenchido com endosperma solidificado; linha de leite localizada no quarto superior do comprimento da semente.
- LL-3 - 50% do endosperma sólido; linha de leite localizada na metade do comprimento da semente.
- LL-4 - 75% do comprimento da semente com endosperma solidificado; linha de leite localizada no quarto inferior da semente.
- LL-5 - Endosperma completamente sólido; linha de leite ausente.

As espigas colhidas nos campos de produção de sementes foram transportadas até o laboratório embaladas em lona isolante térmica, onde foram imediatamente amostradas para determinação do teor de água. Em seguida foram despalhadas e levadas aos secadores experimentais de pequena escala, construídos com base no modelo descrito por Navratil & Burris (1982).

As sementes foram secas em temperatura inicial de 35°C até atingirem 20% de teor de água, seguida de temperatura de 42°C até 12% de teor de água. Em seguida, foram debulhadas a mão, acondicionadas em sacos de papel e estocadas em câmara fria e seca (10°C e 40% UR) até a realização dos testes para avaliação da qualidade fisiológica (germinação, teste de frio, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em bandejas e condutividade elétrica).

Parte das sementes secas foi tratada com a mistura de fungicidas Captan 500 e Tecto 600 na dosagem de 200g e 75g, respectivamente e armazenada em sacos de papel multifoliado por 8 meses em condições ambientes, em que o registro da temperatura e umidade relativa foi realizado por meio de um termohigrógrafo (Figura 4.5). Após o armazenamento, as sementes foram submetidas aos mesmos testes de germinação e vigor conduzidos com as sementes não armazenadas.

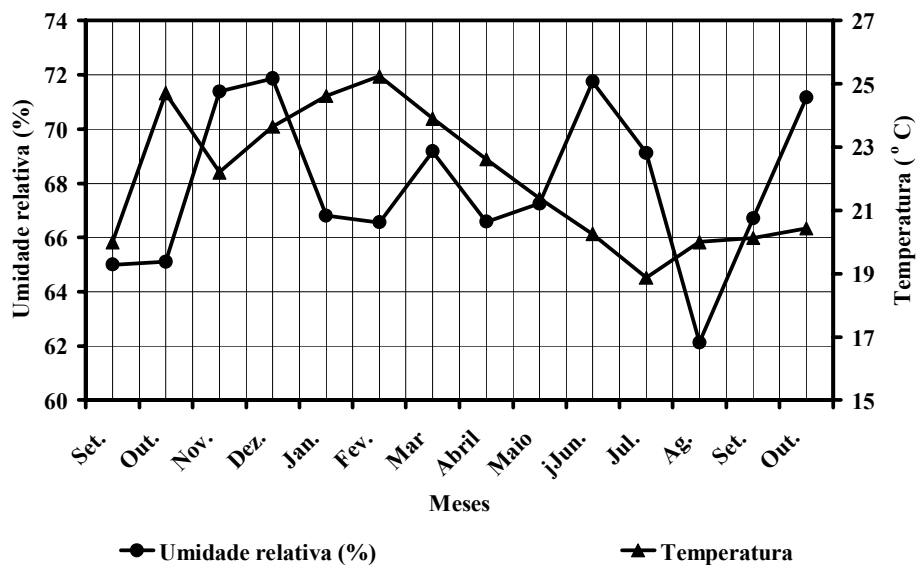


FIGURA 4.5. Médias mensais de temperatura (°C) e de umidade relativa (%) do ar ambiente correspondentes ao período de armazenamento das sementes (setembro de 2000 a outubro de 2001). UFLA, Lavras – MG, 2003.

2.2 Características avaliadas

2.2.1 Teor de água

A determinação do teor de água foi efetuada pelo método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 50g para cada tratamento, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análises de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.2.2. Determinação da camada negra

Cinco sementes de cada repetição para cada linha de leite considerada foram cortadas ao meio, verticalmente, através do plano germinal-abgerminal, e classificadas em um dos cinco estádios de desenvolvimento da camada negra propostos por Hunter et al.(1991):

- 1) Nenhuma pigmentação do endosperma basal ou tecido adjacente à região pedicelo-placenta aparece; o tecido tem uma aparência translúcida.
- 2) A região entre o embrião e a placenta-pedicelo está se tornando marrom, com ocorrência de bandas ou zonas escuras.
- 3) O tecido entre a base do embrião e a região pedicelo-placenta é mais fino e escuro que no estágio 2.
- 4) Uma fina banda marrom escuro avança através de toda a base do grão, entre a junção do endosperma basal e o tecido do embrião.
- 5) O desenvolvimento da camada negra está completo; uma fina camada negra se estende através de toda a base do grão.

Foi calculada a nota média de cada repetição em cada estágio de linha de leite.

2.2.3 Teste de germinação

Para o teste de germinação foram utilizadas 400 sementes (4 sub-amostras de 25 por repetição do campo), semeadas em papel toalha tipo Germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, e colocadas para germinar à temperatura de 25°C. Foram realizadas duas contagens, sendo a primeira no quarto dia e a última no sétimo

dia após a semeadura, segundo prescrições das Regras para Análises de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem, com base no número inteiro aproximado, de plântulas normais.

2.2.4 Primeira contagem de germinação

Aos quatro dias da instalação do teste de germinação foram computadas as plântulas normais, ou seja, aquelas que apresentavam pelo menos duas raízes seminais e parte aérea com dois centímetros de comprimento. Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.2.5 Teste de frio

O teste de frio sem solo foi realizado conforme metodologia proposta por Loeffler et al. (1985), com quatro repetições de 25 sementes distribuídas em papel toalha, umedecidas com quantidade de água equivalente a três vezes o peso do papel toalha. Após a semeadura, os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos vedados com fita adesiva e mantidos em câmara regulada a 10°C durante 7 dias. Ao final desse prazo, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e transferidos para germinador a 25°C, onde permaneceram por 5 dias, quando se efetuou a contagem das plântulas normais. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem.

2.2.6 Teste de envelhecimento acelerado

No teste de envelhecimento acelerado as sementes foram acondicionadas em caixa acrílica tipo gerbox com uma lâmina de água de 40ml no fundo, suspensas 2cm por uma fina malha metálica. Em seguida, foram colocadas em

câmara tipo “BOD” a 42°C e mantidas durante 96 horas (ISTA, 1995). Após este período, quatro sub-amostras de 25 sementes por repetição de campo foram colocadas para germinar conforme o teste de germinação. A avaliação foi realizada no sétimo dia após a semeadura, computando-se o número de plântulas normais.

2.2.7 Teste de condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica de massa foi realizado com quatro sub amostras de 25 sementes que foram pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75ml de água deionizada, cuja condutividade não excedia 3µmhos/cm/g; as leituras de condutividade foram realizadas após 24 horas de embebição a 25°C, com o condutivímetro Digimed, modelo CD-21, e os resultados foram expressos em µmhos/cm/g de semente.

2.2.8 Emergência de plântulas em bandeja

Foi conduzido com quatro subamostras de 25 sementes por repetição de campo, que foram semeadas em caixas plásticas contendo mistura de areia e terra na proporção de 1:1 e umidade ajustada para 70% da capacidade de retenção. As caixas foram mantidas em câmara de crescimento a 25°C e, a partir da emergência das plântulas foram efetuadas avaliações diárias até a completa estabilização do estande. O índice de velocidade de emergência foi calculado seguindo expressão proposta por Maguirre (1962):

$$\text{IVE} = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$$

Em que:

IVE: índice de velocidade de emergência;

G1, G2, ... Gn: número de plântulas emergidas, computadas na primeira, segunda, ... última contagem;

N1, N2, ...Nn: número de dias de semeadura à primeira, segunda, ... última contagem.

2.3 Análise estatística

A análise dos dados foi efetuada separadamente para cada híbrido, utilizando o programa Sisvar (Ferreira 2000). O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2 (épocas de semeadura) x 4 (estádios de linha de leite) x 2 (tempos de armazenamento) com quatro repetições. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes do híbrido AG-9090 produzidas na primavera/verão apresentaram menores teores de água em relação às produzidas no outono/inverno, para os estádios de linha de leite LL-2, LL-3 e LL-4. Já as colhidas no estádio LL-5 no inverno apresentaram-se com menor teor de água, sendo que as colheitas iniciaram aos 28 dias após florescimento (DAF) no outono/inverno e 34 DAF na primavera/verão (Tabela 4.1).

Para o híbrido DKB350 (Tabela 4.2), foram observados menores valores de teores de água para as sementes colhidas na primavera/verão, na linha de leite 2 (LL-2), e maiores valores para as colhidas na linha de leite 4 (LL-4). A colheita se deu mais cedo no outono/inverno (28 DAF) em relação à primavera/verão (33 DAF).

Os estádios da camada negra foram mais subjetivos de se determinar e só foram coincidentes com os estádios de linha de leite a partir do estádio 4 para o híbrido AG-9090 (Tabela 4.1) e a partir do estádio 3 para o híbrido DKB-350 (Tabela 4.2). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Hunter et al. (1991), que compararam o uso dos estádios de linha de leite com os 5 estádios de camada negra propostos por Rench & Shaw (1971), encontrando que os três primeiros estádios de camada negra foram mais subjetivos e difíceis de determinar. A partir dos estádios 4 e 5 de ambos os indicadores houve coincidência entre os dois métodos para todos os genótipos avaliados.

TABELA 4.1. Teores de água, dias após florescimento (DAF) e estágio de camada negra (médias de notas segundo escala de Hunter et al., 1991) de sementes colhidas nos quatro estádios de linha de leite para o híbrido AG-9090 em duas épocas de produção: outono/inverno (O/I) e primavera/verão (P/V). UFLA, Lavras – MG, 2003.

| Estádios (LL) | AG-9090 | | | | | |
|------------------|---------------------------------|---------|-------|-------|----------------------------|--------|
| | Teor de água na colheita (%) | | DAF | | Estádio da camada negra | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LL-2 | 55,1Aa | 49,0Ab | 28 | 34 | 1,0 Aa | 1,0 Aa |
| LL-3 | 50,1 Ba | 43,0 Bb | 33 | 39 | 1,4 Ab | 2,6 Ba |
| LL-4 | 42,0 Ca | 38,5 Cb | 43 | 44 | 3,6 Bb | 4,2 Ca |
| LL-5 | 28,3 Db | 33,0 Da | 65 | 51 | 5,0 Ca | 5,0 Da |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

TABELA 4.2. Teores de água, dias após florescimento (DAF) e estágio de camada negra (médias de notas segundo escala de Hunter et al., 1991) de sementes colhidas nos quatro estádios de linha de leite para o híbrido DKB-350 em duas épocas de produção: outono/inverno (O/I) e primavera/verão (P/V). UFLA, Lavras – MG, 2003.

| Estádios (LL) | DKB-350 | | | | | |
|------------------|---------------------------------|----------|-------|-------|----------------------------|---------|
| | Teor de água na colheita (%) | | DAF | | Estádio da camada negra | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LL-2 | 52,3 A a | 50,0 A b | 28 | 33 | 1,0 A a | 1,0 A a |
| LL-3 | 43,2 B a | 44,0 B a | 39 | 39 | 2,6 B b | 3,2 B a |
| LL-4 | 35,5 C b | 37,0 C a | 48 | 47 | 4,0 C a | 4,0 C a |
| LL-5 | 27,3 D a | 28,0 D a | 58 | 57 | 5,0 D a | 5,0 D a |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para o híbrido AG-9090 foram observadas diferenças significativas para as interações épocas x armazenamento x estádios de linha de leite nos testes de germinação, condutividade elétrica, teste de frio e índice de velocidade de emergência. Também foram observadas diferenças significativas para as interações épocas x armazenamento e épocas x estádios de linha de leite para os testes de germinação, 1ª contagem e emergência de plântulas. Para o teste de envelhecimento acelerado, houve significância da interação armazenamento x estádios de linha de leite (Tabela 5A).

As sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite apresentaram diferentes valores de condutividade elétrica, os quais diminuíram com o avanço da linha de leite (Tabela 4.3). A diminuição nos valores de condutividade elétrica com o avanço nos estádios de maturação de sementes de milho foi também encontrada por Powell (1986) e Fagioli & Vieira (2000).

O desenvolvimento e organização estrutural das membranas celulares aumenta com a maturação, o que explica a redução nos valores de condutividade elétrica. Os maiores valores de condutividade observados após o armazenamento, indicando menor vigor, podem ser explicados pela degradação de membranas como sendo a primeira consequência da deterioração, a qual foi maior nas sementes colhidas nos estádios iniciais de maturação. Quando armazenadas, sementes mais imaturas, colhidas nos estádios 2 e 3 de linha de leite, mostraram-se mais sensíveis ao processo de deterioração.

Em relação ao vigor avaliado pelo teste de frio e índice de velocidade de emergência (Tabela 4.3), ficou evidenciada a superioridade das sementes colhidas nos estádios de linha de leite 4 e 5 (LL4 e LL5) em relação às colhidas nos estádios de linha de leite 2 e 3 (LL2 e LL3), tanto na primavera/verão quanto no outono/inverno, antes e após o armazenamento. Para o índice de velocidade

de emergência, não se encontraram diferenças entre as sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, na primavera/verão.

TABELA 4.3. Valores médios de vigor obtidos pelos testes de condutividade elétrica, teste de frio e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes do híbrido AG-9090, colhidas em diferentes estádios de linha de leite, no outono/inverno de 2000 (O/I) e primavera/verão 2000/2001(P/V), antes e após armazenamento por 8 meses. UFPA, Lavras –MG, 2003.

| Estádio | Cond. Elétrica (µmhos/cm/g) | | | | Teste Frio (%) | | | | IVE | | | |
|---------|-----------------------------|--------|-------------|--------|----------------|-------|-------------|-------|--------------|-------|-------------|-------|
| | Antes armaz. | | Após armaz. | | Antes armaz. | | Após armaz. | | Antes armaz. | | Após armaz. | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LL-2 | 24,2 D | 17,4 D | 58,8 D | 19,6 C | 84B | 89 B | 62 C | 93 B | 5,7 B | 6,1 A | 3,9 B | 5,7 A |
| LL-3 | 16,2 C | 12,8 C | 40,2 C | 14,6 B | 87 B | 93 AB | 83 B | 95 AB | 6,1AB | 6,0 A | 4,2 B | 6,2 A |
| LL-4 | 9,2 B | 9,4 B | 22,4 B | 11,4 A | 98 A | 98 A | 97 A | 98 A | 6,8 A | 6,2 A | 4,2 B | 6,9 A |
| LL-5 | 4,9 A | 7,4 A | 11,5 A | 10,3 A | 98 A | 97 A | 98 A | 99 A | 6,5AB | 6,1 A | 5,1 A | 7,0 A |

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas colunas para cada teste, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Por meio dos testes de germinação, de primeira contagem e emergência de plântulas (Tabela 4.4), observou-se que as sementes colhidas nos estádios 4 e 5 de linha de leite (LL4 e LL5), no outono/inverno, apresentaram valores superiores às colhidas nos estádios 2 e 3 (LL2 e LL3). Já na primavera/verão, não houve diferença na qualidade fisiológica das sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite.

Pelos dados médios observados nos teste de primeira contagem e germinação das sementes colhidas em todos estádios de linha de leite foi observado que para as sementes produzidas no outono/inverno não houve diferença quanto ao armazenamento (Tabela 4.5). Já para sementes produzidas na primavera/verão, sementes não submetidas ao armazenamento apresentaram melhor desempenho pelo teste de primeira contagem.

De uma maneira geral, maiores valores de germinação e vigor foram encontrados em sementes colhidas a partir do estádio 4 de linha de leite (LL4), para a semeadura de outono/inverno, e a partir do estádio 3 (LL3) para a semeadura de primavera/verão. Esses resultados podem ser explicados pelo maior teor de água das sementes colhidas nos estádios LL-2 e LL-3 no outono/inverno, 55,1% e 50,1%, respectivamente, em comparação com as colhidas nesses estádios na primavera/verão, de 49% e 43%, respectivamente.

Pela análise dos dados climáticos ocorridos em Irai de Minas (Figuras 4.1 e 4.2) durante as épocas de produção das sementes do híbrido AG-9090, constata-se que por ocasião da colheita das sementes de outono/inverno nos estádios LL2 e LL3, a precipitação pluviométrica e temperaturas foram mais baixas do que as que ocorreram durante a produção de primavera/verão. Esses fatores podem ter contribuído para a antecipação da ocorrência dos estádios iniciais de linha de leite.

TABELA 4.4. Valores médios (%) obtidos nos testes de 1ª contagem, teste de germinação e teste de emergência de plântulas de sementes do híbrido AG9090, colhidas em diferentes estádios de linha de leite, no outono/inverno de 2000 (O/I) e primavera/verão de 2000/2001 (P/V). UFLA, Lavras –MG, 2003.

| Estádio | 1ª contagem | | Teste germinação | | Emerg. Plântulas | |
|--------------|-------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LL-2 | 63 C | 82 A | 93 C | 99 A | 84 B | 99 A |
| LL-3 | 83 B | 83 A | 97 B | 99 A | 87 B | 99 A |
| LL-4 | 95 A | 84 A | 99 A | 99 A | 98 A | 99 A |
| LL-5 | 97 A | 85 A | 100 A | 100 A | 98 A | 99 A |
| Média | 85 | 84 | 97 | 99 | 92 | 99 |

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, para cada teste, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4.5. Valores médios (%) dos testes de 1ª contagem, teste de germinação e teste de emergência de plântulas de sementes do híbrido AG-9090, colhidas em diferentes estádios de linha de leite, no outono/inverno de 2000 (O/I) e primavera/verão de 2000/2001(P/V), antes e após armazenamento por 8 meses. UFLA, Lavras –MG, 2003.

| Armaz. | 1ª contagem | | Teste germinação | | Emerg. Plântulas | |
|--------------|-------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| | Época | | Época | | Época | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| Antes | 87 Ab | 97 Aa | 98 Aa | 97 Bb | 98 Aa | 99 Aa |
| Após | 82 Aa | 69 Bb | 99 Aa | 100 Aa | 96 Bb | 99 Aa |
| Média | 84 | 83 | 98 | 99 | 97 | 99 |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para o híbrido DKB-350 foram observadas diferenças significativas para as interações épocas x armazenamento x estádios de linha de leite nos testes de germinação, condutividade elétrica, teste de frio, envelhecimento acelerado e índice de velocidade de emergência. Também foram observadas diferenças significativas para as interações épocas x armazenamento e épocas x estádios de linha de leite para os testes de 1ª contagem e emergência de plântulas (Tabela 6A).

As sementes colhidas no outono/inverno e na primavera/verão nos diferentes estádios de linha de leite, que não foram armazenadas, apresentaram diferentes valores de condutividade elétrica, a qual diminuiu com o avanço da linha de leite, antes do armazenamento (Tabela 4.6). Após o armazenamento, as sementes colhidas nos estádios 3, 4 e 5 de linha de leite na época de outono/inverno apresentaram menores valores de condutividade elétrica que as colhidas no estágio 2 de linha de leite. Esses resultados indicam que as sementes colhidas a partir do estágio 3 de linha de leite apresentaram menor degradação de membranas, portanto, com maior potencial de armazenamento. Sementes mais imaturas, colhidas no estágio 2, mostraram-se mais sensíveis ao processo de deterioração.

Em relação ao vigor avaliado pelo teste de frio, pelo índice de velocidade de emergência e pelo teste de envelhecimento acelerado (Tabelas 4.6 e 4.7), ficou evidenciada a superioridade das sementes colhidas nos estádios de linha de leite 3, 4 e 5 (LL3, LL4 e LL5) em relação às colhidas nos estádios de linha de leite 2 (LL2), tanto para sementes produzidas na primavera/verão quanto no outono/inverno, para sementes não armazenadas e armazenadas por oito meses.

TABELA 4.6. Valores médios de vigor obtidos pelo teste de condutividade elétrica, teste de frio e índice de velocidade de emergência de sementes do híbrido DK-B-350, colhidas nos estádios de linha de leite, no outono/inverno de 2000 (O/I) e primavera/verão 2000/2001(P/V), antes e após armazenamento por 8 meses. UFFLA, Lavras –MG, 2003.

| Estádio | Condutividade Elétrica ($\mu\text{mohs/cm/g}$) | | | | Teste Frio (%) | | | | IVE | | | |
|---------|---|--------|---------------|--------|----------------|-------|---------------|-------|----------------|--------|---------------|-------|
| | Antes armazen. | | Após armazen. | | Antes armazen. | | Após armazen. | | Antes armazen. | | Após armazen. | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LI-2 | 16,4 D | 18,1 D | 33,9 B | 22,2C | 86 B | 82 B | 70 B | 93 B | 4,6 B | 5,5 B | 3,6 B | 5,5 A |
| LI-3 | 9,0 C | 12,5 C | 13,5 A | 13,3 B | 95 A | 95 A | 92 A | 98 AB | 5,7 A | 6,2 AB | 4,6 A | 5,8 A |
| LI-4 | 6,9 B | 7,7 B | 11,3 A | 9,0 A | 95 A | 97 A | 96 A | 99 A | 5,7 A | 6,5 A | 4,7 A | 6,5 A |
| LI-5 | 4,3 A | 6,8 A | 7,5 A | 7,7 A | 97 A | 95 A | 76 B | 97 AB | 5,6 A | 5,5 AB | 4,4 A | 6,6 A |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4.7 - Valores médios de germinação e envelhecimento acelerado de sementes do híbrido DKB-350, colhidas nos diferentes estádios de linha de leite, no outono/inverno de 2000 (O/I) e primavera/verão de 2000/2001 (P/V), antes e após armazenamento por 8 meses. UFLA, Lavras –MG, 2003.

| Estádio | Teste de Germinação (%) | | | | Envelhecimento Acelerado (%) | | | |
|---------|-------------------------|-------|---------------|-------|------------------------------|-------|---------------|-------|
| | Antes armazen. | | Após armazen. | | Antes armazen. | | Após armazen. | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LL-2 | 98 A | 99 A | 88 B | 97 B | 96 A | 89 B | 59 B | 85 B |
| LL-3 | 100 A | 99 A | 99 A | 99 A | 99 A | 95 AB | 99 A | 97 A |
| LL-4 | 100 A | 99 A | 99 A | 99 A | 99 A | 98A | 94 A | 99 A |
| LL-5 | 99 A | 98 A | 99 A | 99 A | 100 A | 99A | 98 A | 100 A |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foram observados valores de germinação acima de 88%, considerando as duas épocas de semeadura e o armazenamento, para as sementes colhidas em todas os estádios de linha de leite (Tabela 4.7). Somente houve diferença significativa para as sementes colhidas no estádio de linha de leite 2, as quais apresentaram menores valores em relação às colhidas nos demais estádios, para as sementes armazenadas, considerando as duas épocas de semeadura. Esses resultados evidenciam que após a secagem, mesmo as sementes colhidas com altos teores de água apresentaram valores de germinação iguais aos das sementes colhidas com menores teores de água.

Por meio dos testes de primeira contagem e emergência de plântulas, observou-se que as sementes colhidas nos estádios 3, 4 e 5 de linha de leite (LL-4 e LL-5), no outono/inverno apresentaram valores superiores às colhidas nos estádios 2 de linha de leite (LL2) (Tabela 4.8). Já na primavera/verão, pelo teste de emergência de plântulas não houve diferença estatística para as sementes colhidas nos diferentes estádios de linha de leite.

Pelos dados médios do teste de primeira contagem e emergência de plântulas, observou-se que as sementes produzidas no outono/inverno apresentaram maior qualidade antes do armazenamento. Já para sementes produzidas na primavera/verão, não houve diferença na qualidade das sementes quanto ao armazenamento (Tabela 4.9).

Maiores valores de germinação e vigor foram encontrados em sementes do híbrido DKB-350 colhidas a partir do estádio 3 de linha de leite (LL3), tanto para sementes produzidas no outono/inverno como na primavera/verão.

Para os dois híbridos avaliados, o cultivo de verão se mostrou mais favorável à colheita de sementes a partir do estádio 3 de linha de leite, quando as mesmas se encontram com 50% de endosperma endurecido, sem que fosse constatado redução de qualidade durante o armazenamento. Isto pode ser explicado pelo fato de as sementes produzidas na primavera/verão terem sido colhidas com menores teores de água no estádio LL2 para ambos os híbridos e nos estádios LL3 e LL4 para o AG-9090 (Tabelas 4.1 e 4.2). Nos dois locais de produção dos híbridos, ocorreram baixas temperaturas e baixa precipitação pluviométrica na época outono/ inverno, quando comparadas à época primavera/ verão, fato que pode ter levado à antecipação da ocorrência dos estádios iniciais da linha de leite.

TABELA 4.8. Valores médios (%) obtidos pelos testes de 1ª contagem e teste de emergência de plântulas de sementes do híbrido DKB-350, colhidas em diferentes estádios de linha de leite, no outono/inverno de 2000 (O/I) e primavera/verão 2000/2001 (P/V). UFLA, Lavras –MG, 2003.

| Estádio | 1ª contagem | | Emerg. Plântulas | |
|---------|-------------|-------|------------------|-------|
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| LL-2 | 70 B | 84 B | 93 B | 98 A |
| LL-3 | 90 A | 92 A | 100 A | 99 A |
| LL-4 | 90 A | 94 A | 99 A | 99 A |
| LL-5 | 91 A | 95 A | 98 A | 99 A |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4.9. Valores médios (%) obtidos pelos testes de 1ª contagem e teste de emergência de plântulas de sementes do híbrido DKB-350, colhidas em diferentes estádios de linha de leite, no outono/inverno (O/I) de 2000 e primavera/verão (P/V) de 2000/2001, antes e após armazenamento por 8 meses. UFLA, Lavras –MG, 2003.

| Armaz. | 1ª contagem | | Emerg. Plântulas | |
|--------|-------------|-------|------------------|-------|
| | Época | | Época | |
| | (O/I) | (P/V) | (O/I) | (P/V) |
| Antes | 89 Aa | 93 Aa | 99 Aa | 99 Aa |
| Após | 81 Bb | 90 Aa | 96 Bb | 99 Aa |

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas ou maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 CONCLUSÕES

Para o híbrido AG-9090 cultivado no inverno, a colheita e o armazenamento das sementes são mais seguros, se estas forem colhidas a partir do estágio de linha de leite 4 (LL4), quando se encontram com 75% de endosperma endurecido. Porém, quando cultivado no verão, pode-se iniciar a colheita das sementes a partir da linha de leite 3 (LL3), quando estas se encontram com 50% de endosperma endurecido.

Para o híbrido DKB-350, em qualquer das épocas de semeadura a colheita das sementes pode ser iniciada a partir do estágio 3 de linha de leite (LL3), sem redução na qualidade durante o armazenamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFUAKWA, J. J.; CROOKSTON, R. K. Using the kernel milk line to visually monitor grain maturity in maize. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 4, p. 687-691, July/Aug. 1984.

AFUAKWA, J. J.; CROOKSTON, R. K.; JONES, R. J. Effect of temperature and sucrose availability on black layer formation in maize. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 2, p. 285-288, Mar./Apr. 1984.

BORBA, C. B.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.) produzidas no inverno. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 129-132, 1995.

BORBA, C. B.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T.; OLIVEIRA, A. C. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 63-67, 1994.

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

DAYNARD, T. B. Relationships among black layer formation, grain moisture percentage, and heat unit accumulation in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 64, n. 6, p. 716-719, Dec. 1972.

FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; CASAGRANDE, J. R. R. Efeito de genótipos e dos estádios de maturação na qualidade de sementes de milho. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 9, n. 1/2, p. 32, jul./ago. 1999.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análise estatística – SISVAR**. Lavras – MG: UFLA-DCE, 2000.

FESSEL, S. A.; VIEIRA, R. D.; MENDONÇA, E. A. F.; CARVALHO, R. V. Maturidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 191-197, 2001.

HUNTER, J. L.; TEKRONY, D. M.; MILES, D. F.; EGLI, D. B. Corn seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilate. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 5, p. 1309-1313, Sept./Oct. 1991.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. **Handbook of vigours tests methods**. 3. ed. Zurich, 1995. 117 p.

LOEFFLER, N. L.; MEIER, J. L.; BURRIS, J. S. Comparison of two cold test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, n. 3, p. 653-658, 1985.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. Small-scale dryer designer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 1, p. 159-161, Jan./Feb. 1982.

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

RENCH, W. F.; SHAW, R. H. Black layer development in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 63, n. 2, p. 303-305, Mar./Apr. 1971.

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 857-862, May/June 1995.

ANEXOS

CAPÍTULO 2

Página

TABELA 1A.Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estágio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido AG-9090 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFLA, Lavras – MG,2003. **120**

TABELA 2A.Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estágio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido AG-9010 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFLA, Lavras – MG,2003. **121**

TABELA 3A.Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estágio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido DKB-350 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFLA, Lavras – MG,2003. **122**

TABELA 4A.Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estágio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido DKB-747 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFLA, Lavras – MG,2003. **123**

TABELA 1A. Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estádio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido AG-9090 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFPA, Lavras – MG,2003.

| FV | GL | QM tempo 0 | | | | QM tempo 8 | | | |
|-----------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| | | TPG | CE | TF | EA | TPG | CE | TF | EA |
| Linhas de leite | 3 | 17,98** | 277,41** | 184,41** | 21,42** | 55,16** | 1737,38** | 1108,75** | 178,89** |
| Reg. Linear | 1 | 20,66** | 628,88** | 119,57** | 12,16** | 84,54** | 2587,65** | 2442,54** | 304,98** |
| Reg. Quadrática | 1 | 24,45** | 84,87** | 201,29** | 23,65** | 61,52** | 318,40** | 547,98** | 217,64** |
| Desvio | 1 | 8,57* | 78,49* | 232,56** | 1,43 NS | 9,42 NS | 506,66** | 335,74** | 14,06 NS |
| Erro | 12 | | | | | | | | |
| CV (%): | | 1,12 | 10,9 | 4,04 | 1,71 | 1,86 | 11,21 | 4,11 | 3,16 |

** significativo a 1% de probabilidade

* significativo a 5% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 2A. Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estádio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido AG-9010 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFPA, Lavras – MG,2003.

| FV | GL | QM tempo 0 | | | | QM tempo 8 | | | |
|-----------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|------------|
| | | TPG | CE | TF | EA | TPG | CE | TF | EA |
| Linhas de leite | 3 | 13,83** | 167,14** | 313,17** | 166,25** | 113,06** | 215,49** | 119,23** | 116,23** |
| Reg. Linear | 1 | 30,59** | 321,56** | 706,10** | 357,97** | 177,27** | 40,88* | 220,51** | 236,57** |
| Reg. Quadrática | 1 | 10,73** | 105,52** | 225,12** | 136,58** | 161,88** | 101,94** | 129,60** | 110,57** |
| Desvio | 1 | 0,17 NS | 8,48 NS | 8,27 NS | 4,19 NS | 0,03 NS | 0,44 NS | 7,56 NS | 1,14 NS |
| Erro | 12 | | | | | | | | |
| CV (%): | | 0,55 | 7,22 | 3,30 | 3,86 | 3,45 | 11,83 | 1,98 | 4,6 |

** significativo a 1% de probabilidade

* significativo a 5% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 3A. Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estágio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido DKB-350 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8) . UFPA, Lavras – MG,2003.

| FV | GL | QM tempo 0 | | | | QM tempo 8 | | | |
|-----------------|----|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | | TPG | CE | TF | EA | TPG | CE | TF | EA |
| Linhas de leite | 3 | 21,7** | 100,62** | 102,06** | 23,41** | 125,58** | 555,15** | 631,06** | 1567,85** |
| Reg. Linear | 1 | 59,56* | 234,97** | 66,67* | 132,96** | 157,28** | 1053,64** | 0,00 NS | 1907,91** |
| Reg. Quadrática | 1 | 67,64** | 22,53** | 134,03** | 115,22** | 75,00** | 220,63** | 1412,58** | 1255,64** |
| Desvio | 1 | 11,61* | 44,38** | 105,47* | 122,0* | 144,45** | 391,18** | 480,55** | 1540,12** |
| Erro | 12 | | | | | | | | |
| CV (%): | | 1,55 | 10,47 | 4,11 | 2,11 | 2,86 | 19,07 | 4,45 | 11,54 |

** significativo a 1% de probabilidade

* significativo a 5% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 4A. Resumo das análises de variância e regressão para os teores de água em cada estádio de linha de leite para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica (CE), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) para o híbrido DKB-747 antes (tempo 0) e após o armazenamento (tempo8). UFVA, Lavras – MG,2003.

| FV | GL | QM tempo 0 | | | | QM tempo 8 | | | |
|-----------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| | | TPG | CE | TF | EA | TPG | CE | TF | EA |
| Linhas de leite | 3 | 25,83** | 44,78** | 62,29** | 38,71** | 91,67** | 73,60** | 121,06** | 65,75** |
| Reg. Linear | 1 | 67,01** | 121,98** | 0,08 NS | 126,89** | 124,80** | 212,87** | 27,32* | 16,15* |
| Reg. Quadrática | 1 | 18,56** | 11,80** | 16,54** | 24,04** | 14,67** | 77,02** | 264,97** | 120,42** |
| Desvio | 1 | 1,92* | 0,31 NS | 0,98 NS | 9,25* | 1,86 NS | 2,50 NS | 10,88* | 10,66* |
| Erro | 12 | | | | | | | | |
| CV (%): | | 1,63 | 9,37 | 4,02 | 3,85 | 3,78 | 21,12 | 6,54 | 3,38 |

** significativo a 1% de probabilidade

* significativo a 5% de probabilidade

NS não significativo

CAPÍTULO 3

Página

- TABELA 5A.** Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido AG-9090. UFLA, Lavras – MG,2003. **125**
- TABELA 6A.** Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido DKB-350. UFLA, Lavras – MG,2003. **125**
- TABELA 7A.** Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido AG-9010. UFLA, Lavras – MG,2003. **126**
- TABELA 8A.** Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido DKB-747. UFLA, Lavras – MG,2003. **126**

TABELA 5A. Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido AG-9090. UFLA, Lavras – MG, 2003.

| FV | GL | QM | | | |
|-------------------------|----|-------------|------------------|-------------|--------------|
| | | TPG | CONDUT. ELÉTRICA | TESTE FRIO | ENV. ACELER. |
| Secagem | 1 | 32768,00** | 401,50** | 3916,12** | 3960,5** |
| Linha de leite | 3 | 1799,70** | 114,21** | 2907,45** | 2473,91** |
| Secagem* Linha de leite | 3 | 1548,08** | 39,19** | 927,79** | 1289,08** |
| Erro | 24 | 9,27 | 0,67 | 20,75 | 21,35 |
| CV (%): | | 4,54 | 8,68 | 5,46 | 5,51 |

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 6A. Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido DKB-350. UFLA, Lavras – MG, 2003.

| FV | GL | QM | | | |
|-------------------------|----|-------------|------------------|-------------|--------------|
| | | TPG | CONDUT. ELÉTRICA | TESTE FRIO | ENV. ACELER. |
| Secagem | 1 | 45075,03** | 107,48** | 9905,28** | 17298,00** |
| Linha de leite | 3 | 2599,86** | 43,48** | 2056,78** | 4608,16** |
| Secagem* Linha de leite | 3 | 2599,86** | 19,52** | 1048,69** | 4083,50** |
| Erro | 24 | 28,15 | 0,83 | 49,22 | 40,12 |
| CV (%): | | 8,62 | 11,46 | 9,23 | 8,42 |

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 7A. Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido AG-9010. UFLA, Lavras – MG,2003.

| FV | GL | QM | | | |
|-------------------------|----|-------------|------------------|--------------|--------------|
| | | TPG | CONDUT. ELÉTRICA | TESTE FRIO | ENV. ACELER. |
| Secagem | 1 | 42851,28** | 420,72** | 15009,94** | 11063,28** |
| Linha de leite | 3 | 4988,61** | 223,51** | 3930,79** | 3385,60** |
| Secagem* Linha de leite | 3 | 4506,61** | 78,69** | 1791,42** | 2881,40** |
| Erro | 24 | 1,11 | 1,25 | 114,32 | 93,98 |
| CV (%): | | 1,71 | 11,21 | 15,28 | 12,20 |

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 8A. Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), condutividade elétrica, teste de frio e envelhecimento acelerado, para o híbrido DKB-747. UFLA, Lavras – MG,2003.

| FV | GL | QM | | | |
|-------------------------|----|-------------|------------------|-------------|--------------|
| | | TPG | CONDUT. ELÉTRICA | TESTE FRIO | ENV. ACELER. |
| Secagem | 1 | 40755,12** | 75,89** | 4512,50** | 6244,03** |
| Linha de leite | 3 | 3273,25** | 47,18** | 287,75** | 4772,36** |
| Secagem* Linha de leite | 3 | 3242,70** | 7,06** | 297,25** | 3516,78** |
| Erro | 24 | 4,37 | 0,55 | 30,77 | 48,72 |
| CV (%): | | 3,27 | 11,55 | 6,39 | 8,50 |

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

NS não significativo

CAPÍTULO 4

Página

TABELA 9A. Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), 1ª Contagem (1ª CONT), condutividade elétrica, teste de frio, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência (IVE), emergência de plântulas para o híbrido AG-9090. UFLA, Lavras – MG,2003. **128**

TABELA 10A.Resumo da análise de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG%), 1ª Contagem (1ª CONT), condutividade elétrica, teste de frio, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência (IVE), emergência de plântulas para o híbrido DKB-350. UFLA, Lavras – MG, 2003. **129**

TABELA 9A. Resumo das análises de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG), 1ª Contagem (1ª CONT), condutividade elétrica, teste de frio, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência (IVE), emergência de plântulas para o híbrido AG-9090. UFPA, Lavras – MG, 2003.

| FV | GL | QM | | | | | | |
|-------------------------------------|----|--------------|--------------|------------------|--------------|-----------------|-------------|------------------|
| | | TPG | 1º CONT. | CONDUT. ELÉTRICA | TESTE FRIO | ENVELH. ACELER. | I.V.E. | EMERG. PLÂNTULAS |
| Épocas | 1 | 50,77** | 17,54NS | 1787,07** | 837,38** | 0,77NS | 12,76** | 76,56** |
| Armazenamento | 1 | 2,64NS | 2468,85** | 1921,84** | 0,10NS | 135,14** | 8,44** | 16,00NS |
| Linha de leite | 3 | 35,72** | 1121,45** | 1425,02** | 587,14** | 222,56** | 1,45** | 10,50NS |
| Épocas*Armazenamento | 1 | 26,27** | 4314,85** | 1211,30** | 628,13** | 1,89NS | 23,69** | 27,56* |
| Épocas*Linha de leite | 3 | 32,06** | 827,89** | 430,91** | 592,36** | 4,43NS | 0,50NS | 13,73* |
| Armazenamento*Linha de leite | 3 | 1,85NS | 17,12NS | 146,91** | 120,99** | 160,31** | 1,04* | 1,75NS |
| Épocas*Armazenamento*Linha de leite | 3 | 4,56NS | 35,29NS | 161,00** | 95,44** | 10,56NS | 0,82* | 2,06NS |
| Erro | 48 | 1,65 | 31,86 | 4,42 | 12,88 | 5,31 | 0,27 | 4,03 |
| CV (%): | | 1,31 | 6,72 | 11,57 | 3,90 | 2,39 | 8,95 | 2,05 |
| MÉDIA GERAL: | | 98,23 | 84,04 | 18,17 | 92,10 | 96,33 | 5,77 | 98,06 |

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

NS não significativo

TABELA 10A. Resumo da análise de variância para os resultados dos testes de germinação (TPG%), 1ª Contagem (1ª CONT), condutividade elétrica, teste de frio, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência (IVE), emergência de plântulas para o híbrido DKB-350. UFPA, Lavras – MG, 2003.

| FV | GL | QM | | | | | | |
|-------------------------------------|----|--------------|--------------|------------------|--------------|-----------------|-------------|------------------|
| | | TPG | 1º CONT. | CONDUT. ELÉTRICA | TESTE FRIO | ENVELH. ACELER. | I.V.F. | EMERG. PLÂNTULAS |
| Épocas | 1 | 19,14* | 631,27** | 8,31NS | 489,52** | 45,56NS | 22,74** | 25,00* |
| Armazenamento | 1 | 28,89** | 415,14** | 345,12** | 87,89** | 473,06** | 3,05** | 22,56* |
| Linha de leite | 3 | 68,22** | 938,68** | 818,49** | 566,81** | 1044,60** | 3,36** | 67,27** |
| Épocas*Armazenamento | 1 | 28,89** | 97,52NS | 130,19** | 877,64** | 410,06** | 6,16** | 25,00* |
| Épocas*Linha de leite | 3 | 26,02** | 122,18* | 37,45** | 86,68** | 111,85* | 0,17NS | 20,29* |
| Armazenamento*Linha de leite | 3 | 33,52** | 45,31NS | 70,21** | 110,31** | 451,69** | 0,36NS | 18,44* |
| Épocas*Armazenamento*Linha de leite | 3 | 11,68* | 47,27NS | 28,34** | 159,06** | 248,44** | 0,48* | 9,96NS |
| Erro | 48 | 2,82 | 33,65 | 2,84 | 10,42 | 31,47 | 0,14 | 5,44 |
| CV (%): | | 1,71 | 6,57 | 13,44 | 3,53 | 5,95 | 6,79 | 2,38 |
| MÉDIA GERAL: | | 98,27 | 88,23 | 12,53 | 91,45 | 94,28 | 5,44 | 98,09 |

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

NS não significativo