

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAMILA RIBEIRO DE SOUZA GRZYBOWSKI

RESPOSTAS DE SEMENTES DE MILHO A TESTES ALTERNATIVOS DE VIGOR

CURITIBA

2012

CAMILA RIBEIRO DE SOUZA GRZYBOWSKI

RESPOSTAS DE SEMENTES DE MILHO A TESTES ALTERNATIVOS DE VIGOR

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maristela Panobianco

Co-orientador: Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira

CURITIBA

2012

G895 Grzybowski, Camila Ribeiro de Souza
Respostas de sementes de milho a testes alternativos de
vigor / Camila Ribeiro de Souza Grzybowski. – Curitiba, 2012.
46 f. : il.

Orientador: Maristela Panobianco
Co-orientador: Roberval Daiton Vieira
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação
em Agronomia – Produção Vegetal

1. Milho – Semente. 2. Sementes – Qualidade.
3. Germinação. I. Panobianco, Maristela. II. Vieira, Roberval
Daiton. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências
Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia –
Produção Vegetal. IV. Título

CDU 631.15.013:633.15



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL

PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata **CAMILA RIBEIRO DE SOUZA GRZYBOWSKI**, sob o título "**RESPOSTAS DE SEMENTES DE MILHO A TESTES ALTERNATIVOS DE VIGOR**", para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação.

Curitiba, 16 de Fevereiro de 2012.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Coordenadora do Programa

Professor Dr. Roberval Daiton Vieira
Primeiro Examinador

Professor Dr. Jose Luis Camargo Zambon
Segundo Examinador

Professora Dra. Maristela Panobianco Vasconcellos
Presidente da Banca e Orientadora

DEDICO

Aos meus pais Edeval de Souza e Elisabeth Ribeiro de Souza pelo apoio, incentivo e confiança que depositam em mim.

Ao meu esposo Luiz Carlos Grzybowski pelo amor, apoio, companheirismo e confiança durante minha jornada.

Ao meu irmão Thiago Ribeiro de Souza pelo carinho, amizade e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde, determinação e persistência para alcançar meus objetivos.

A minha amiga e orientadora Prof^ª. Dr^ª. Maristela Panobianco pelo carinho, oportunidade e anos de convivência, ensinamentos, apoio, confiança e incentivos que foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira pela confiança, ensinamentos, sugestões e ajuda na condução de experimentos.

Ao Eng^º. Agr^º. MSc. Osvaldo de Castro Ohlson pela sua atenção, ensinamentos e sugestões, muitas vezes em rápidas conversas, que levarei para minha vida pessoal e profissional.

Aos queridos amigos e colegas do Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Alex Pimenta, Bruna Ariane da Silva, Grasiela Bruzamarello Tognon, José Luiz Nogueira, Luciane Henneberg, Mariana Grassi, Renato Farinacio, Rosemeire Carvalho da Silva, Sibelle Santanna da Silva, Tereza Cristina de Carvalho e a técnica Roseli do Rocio Biora, pelos bons momentos, conversas, risadas e ajuda na condução de experimentos.

Ao Dr. Luiz Antonio Laudares Faria pela contribuição no desenvolvimento da dissertação.

Ao Prof. Dr. João Carlos Bessalho Filho pelo apoio e auxílio oferecido sempre que necessário.

Ao Prof. Dr. José Luis Zambon pela atenção e incentivo.

Aos meus amigos Bernardo Lipski, Éder Borges, Renato Oliveira e Taciana Kuhn pelo incentivo e crédito no meu trabalho.

A Empresa Pioneer Sementes, em especial aos funcionários Ivo Lersch, Márcio José Araujo e Stael B. T. Cunha, pelo fornecimento dos lotes de sementes.

A Dr^ª. Elisa Serra Negra Vieira pela colaboração na pré-defesa.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Sementes da CLASPAR por toda ajuda e atenção.

A todos os colegas, professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, em especial a secretária Lucimara Antunes, por todas as contribuições profissionais e pessoais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

“A semente é o insumo mais nobre da agricultura, é o organismo vivo, é depositária direta ou indiretamente de praticamente todos os avanços tecnológicos conquistados pelos pesquisadores, é um eficiente meio de disseminação de tecnologia, garantindo qualidade e produtividade que beneficia os elos da cadeia, a indústria e os consumidores”.

Ywao Miyamoto

RESUMO

Os testes de vigor são rotineiramente empregados em programas internos de controle de qualidade das empresas sementeiras. Para tanto, é necessária a escolha de métodos eficientes que possibilitem a obtenção de respostas rápidas para a tomada de decisões relacionadas ao manuseio, armazenamento, descarte e comercialização dos lotes de sementes. O milho é a segunda cultura mais produzida no Brasil, tendo alta taxa de utilização de sementes. Diante disso, o trabalho objetivou estudar a metodologia dos testes de submersão em água e germinação a baixa temperatura, para identificação de diferentes níveis de vigor em lotes de sementes de milho. Foram utilizados dois híbridos simples (30F35R e 30P70H) representados por cinco lotes cada, tratados com fungicida e fungicida+inseticida. A avaliação da qualidade inicial dos lotes foi determinada pelo grau de umidade e testes de germinação, emergência de plântulas em campo e de frio. As metodologias alternativas estudadas para a avaliação do vigor de sementes de milho foram: a) teste de submersão em água, combinando diferentes períodos (24, 36, 48 e 72 h) e temperaturas (20, 25 e 30 °C); b) germinação a baixa temperatura, testando-se 15 °C por oito dias e 16, 17 e 18 °C por sete dias. O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). Utilizou-se também o modelo de Spearman para realização da correlação entre as médias do teste de emergência de plântulas em campo e a dos testes de frio, submersão em água e germinação a baixa temperatura. Com base nos dados encontrados, pode-se concluir que dentre os testes estudados, o de submersão em água é o mais promissor para avaliação do vigor de sementes de milho, mediante imersão das sementes por 48 h, a 25 °C.

Palavras-chave: *Zea mays* L., qualidade fisiológica, teste de submersão em água, germinação a baixa temperatura.

ABSTRACT

Vigor tests are routinely used in the internal quality control programs of seed producers. These tests require efficient methods in order to obtain fast results to facilitate decisions on the handling, storage, disposal and commercialization of seed batches. Corn is the second most planted crop in Brazil with a high rate of seed use. The objective of the present study was to study the methodology of water submersion tests and cool germination, for identifying different vigor levels in corn seed batches. Two simple hybrids (30F35R and 30P70H) were evaluated using five batches of each hybrid, treated with a fungicide and a fungicide+insecticide. The initial batch quality was determined from the moisture content and tests for seed germination and seedling emergence and cold test. The alternative methodologies studied to evaluate corn seed vigor were: a) water submersion test, combining different time periods (24, 36, 48 and 72 h) and temperatures (20, 25 and 30 °C); b) cool germination, testing 15 °C for eight days and 16, 17 and 18 °C for seven days. The experimental design was completely random with four repetitions, with means compared using the Tukey test at the 5% probability level. Spearman's model was also used to correlate the means of the seedling emergence test in the field and cold test, water submersion and cool germination. The results show that the water submersion test is the most promising for evaluating corn seed vigor by immersing seeds for 48 h at 25 °C.

Key words: *Zea mays* L., physiological quality, water submersion test, cool germination.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Potencial fisiológico da semente.....	10
2.2. Testes alternativos de vigor para sementes de milho.....	14
2.2.1. Teste de submersão em água	14
2.2.2. Teste de germinação a baixa temperatura.....	16
3. ARTIGO – TESTES DE SUBMERSÃO EM ÁGUA E GERMINAÇÃO A BAIXA TEMPERATURA PARA AVALIAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Zea mays</i> L.....	19
3.1. Resumo	19
3.2. Abstract	19
3.3. Introdução	20
3.4. Material e Métodos	21
3.5. Resultados	23
3.6. Discussão	28
3.7. Referências.....	30
4. CONCLUSÕES GERAIS	34
5. REFERÊNCIAS	35
6. ANEXO	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grau de umidade, germinação e vigor (emergência de plântulas em campo e teste de frio com terra) de sementes de cinco lotes de milho. Híbrido 30F35R.	24
Tabela 2. Grau de umidade, germinação e vigor (emergência de plântulas em campo e teste de frio com terra) de sementes de cinco lotes de milho. Híbrido 30P70H.	25
Tabela 3. Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de submersão em água, de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30F35R.....	26
Tabela 4. Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de submersão em água, de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30P70H.	27
Tabela 5. Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de germinação a baixa temperatura, de 10 lotes de sementes de milho. Híbridos 30F35R e 30P70H.....	27
Tabela 6. Vigor avaliado pelo teste de submersão em água de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30F35R.....	42
Tabela 7. Grau de umidade de cinco lotes de sementes de milho após período de submersão em água (24, 36, 48 e 72 horas). Híbrido 30F35R.....	43
Tabela 8. Vigor avaliado pelo teste de submersão em água de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30P70H.....	44
Tabela 9. Grau de umidade de cinco lotes de sementes de milho após período de submersão em água (24, 36, 48 e 72 horas). Híbrido 30P70H.	45
Tabela 10. Vigor avaliado pelo teste de germinação a baixa temperatura de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30F35R.....	46
Tabela 11. Vigor avaliado pelo teste de germinação a baixa temperatura de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30P70H.	46

1. INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é a segunda cultura mais produzida no Brasil, sendo que a cada ano o aprimoramento tecnológico dos agricultores aumenta e, conseqüentemente, a taxa de utilização de sementes também se eleva. Na safra 2010/11, a área plantada chegou a 13.838,7 mil hectares, com taxa de utilização de sementes de 84%, resultando na produção de 57 milhões de toneladas grãos (ABRASEM, 2011; CONAB, 2011).

O aprimoramento técnico das empresas produtoras de sementes, visando o aumento da produtividade e incremento na qualidade do produto colhido tem levado a maior utilização de sementes no Brasil. Para tanto, a avaliação do potencial fisiológico da semente serve como base para os processos de produção, armazenamento, distribuição e comercialização de lotes.

A determinação do vigor da semente foi introduzida dentro do controle de qualidade das empresas, a fim de se ter segurança e garantia da qualidade das sementes comercializadas. Para sementes de milho, o teste mais utilizado na avaliação do vigor é o de frio, tendo como princípio a exposição das sementes a fatores adversos de baixa temperatura, alta umidade do substrato e presença de microrganismos patogênicos, no caso de utilização de solo oriundo de área onde se cultivou a espécie (Barros et al., 1999). Outro teste bastante utilizado para a espécie é o de envelhecimento acelerado (Torres, 1998; Fessel et al., 2000; Dutra e Vieira, 2004), o qual avalia a taxa de deterioração da semente quando colocada em condições de estresse de alta umidade e temperatura.

Na região Sul do Brasil, a semeadura do milho é realizada em grande parte de setembro até final de novembro, período no qual é comum a ocorrência de chuvas, podendo ocorrer também baixa temperatura do solo. A condição adversa de alagamento do solo influencia a perda de viabilidade e vigor das sementes, por reduzir a disponibilidade de oxigênio. Neste sentido, o teste de submersão em água é alternativa promissora por simular condição de alagamento do solo. Na condução deste teste, as sementes ficam imersas em água por determinado período e a uma dada temperatura, podendo ocasionar injúria por rápida embebição, ou seja, pela entrada de água em grande quantidade e rapidez no interior das sementes, devido à diferença de potencial hídrico entre o interior da semente e o meio, induzindo ao metabolismo fermentativo (Crawford, 1978). A semente que já apresenta algum dano terá menor disponibilidade de energia para o processo germinativo, resultando em menor vigor (Richard et al., 1991).

Por outro lado, em razão do milho ser uma cultura de verão, sua sensibilidade a baixas

temperaturas é maior; conseqüentemente, a germinação e o estabelecimento do estande de plântulas podem ser afetados por temperaturas baixas, estando diretamente relacionado com a viabilidade e o vigor do lote. Nessa situação, a reorganização das membranas celulares durante a embebição das sementes pode ser dificultada, tornando o processo mais lento, principalmente em lotes menos vigorosos. O teste de germinação a baixa temperatura pode assim constituir-se em opção para avaliação do vigor das sementes.

Baseado no exposto, o trabalho objetivou estudar a metodologia dos testes de submersão em água e de germinação a baixa temperatura, para avaliar o vigor de lotes de sementes de milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Potencial fisiológico da semente

O potencial fisiológico reúne informações sobre a viabilidade e o vigor do lote de sementes, sendo o termo potencial traduzido como virtualidade ou conjunto de aptidões para realizar tarefas e produzir resultados (Marcos Filho, 2005).

O teste comumente utilizado para a determinação da viabilidade das sementes é o de germinação, que tem como principais objetivos a obtenção de informações sobre o valor das sementes para a semeadura e a comparação da qualidade de diferentes lotes (Marcos Filho, 2005; Lima et al., 2006). A sua condução dá-se sob condições ótimas, a fim de proporcionar a máxima germinação da amostra analisada. Essas condições referem-se à disponibilidade de água, aeração e temperatura (Marcos Filho et al., 1987; Brasil, 2009).

O teste de germinação tem em vista pelo menos dois aspectos: fornecer informações sobre o potencial de um lote para germinar sob condições favoráveis de ambiente e apresentar alto grau de padronização, com ampla possibilidade de repetição dos resultados, dentro de níveis razoáveis de tolerância, desde que as instruções estabelecidas sejam seguidas (Marcos Filho, 1999a; Brasil, 2009).

Por outro lado, o teste de germinação pode superestimar o potencial fisiológico das sementes por não avaliar a sua interação com o ambiente e, por este motivo, a pesquisa tem efetuado estudos para desenvolver métodos que permitam a avaliação do vigor da semente

(Kikuti et al., 1999; Ávila et al., 2007; Ohlson et al., 2010).

O vigor compreende um conjunto de propriedades que determinam a capacidade de emergência e o rápido desenvolvimento de plântulas normais, sob ampla faixa de condições ambientais (Baalbaki et al., 2009). Dessa forma, seu objetivo básico é identificar adequadamente quais os lotes apresentam maior potencial para se estabelecer em campo (Marcos Filho, 2005).

A análise de sementes é ferramenta importante no controle de qualidade, principalmente a partir do final do período de maturação, quando as sementes atingem a maturidade fisiológica. Portanto, a seleção de testes de vigor deve atender a objetivos específicos, sendo importante a identificação das características avaliadas pelo método e sua relação com o comportamento das sementes diante de situações específicas como, por exemplo, desempenho após a secagem, potencial de armazenamento, resposta a injúrias mecânicas e as condições climáticas (Baalbaki et al., 2009).

De acordo com McDonald (1975), os testes de vigor podem ser classificados como físicos, fisiológicos, bioquímicos e de resistência a estresse. Os testes físicos avaliam características morfológicas ou físicas das sementes que possam estar associados ao vigor, tais como tamanho, densidade, coloração das sementes e teste de raio X. Os fisiológicos baseiam-se em atividades fisiológicas específicas que tenham sua manifestação dependente do vigor, podendo-se citar: testes de classificação do vigor de plântulas, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação ou de emergência de plântulas. Os bioquímicos avaliam as mudanças bioquímicas relacionadas ao vigor das sementes; entre eles estão os testes de tetrazólio, condutividade elétrica e lixiviação de potássio. Por fim, os testes de resistência ao estresse analisam o comportamento das sementes quando expostas a condições desfavoráveis do ambiente, com destaque para os testes de envelhecimento acelerado, deterioração controlada, frio, germinação a baixa temperatura e submersão em água (Marcos Filho, 2005 e 1999a).

Os testes de vigor apesar de possuírem diferenças tecnológicas, têm o intuito de detectar distinções significativas no potencial fisiológico de lotes com germinação semelhante (Lima et al., 2006; Dutra e Medeiros Filho, 2008), classificando-os em níveis de vigor, especialmente de maneira proporcional ao comportamento da emergência de plântulas em campo (Marcos Filho, 1999a).

O milho é a segunda cultura mais produzida no Brasil, sendo que na safra 2010/11 a área plantada chegou a 13.838,7 mil hectares (crescimento de 6,5% em relação à safra anterior), gerando uma produção de grãos em torno de 57 milhões de toneladas (CONAB,

2011). Portanto, com o aprimoramento tecnológico dos agricultores, a demanda por sementes de milho híbrido de alta qualidade fisiológica tem aumentado, o que pode ser constatado por meio da taxa de utilização de sementes, que na referida safra foi de 84% (ABRASEM, 2011).

A avaliação do vigor de sementes de milho tem sido realizada principalmente pelos testes de frio (Molina et al., 1987; Torres, 1998; Caseiro e Marcos Filho, 2000 e 2002), envelhecimento acelerado (Hampton e TeKrony, 1995; Fessel et al., 2000; Dutra e Vieira, 2004; Bittencourt e Vieira, 2006) e de tetrazólio (Barros e Dias, 1995; Chamma e Novembre, 2007).

O teste de frio é um dos testes de vigor mais estudados e utilizados (Nijënstein e Kruse, 2000; Baalbaki et al., 2009), principalmente para sementes de milho, uma vez que a época de semeadura da cultura coincide normalmente quando os solos estão úmidos e com baixa temperatura, aumentando a probabilidade de ocorrer baixa emergência de plântulas (Barros et al., 1999). No Brasil, o teste tem sido utilizado por empresas produtoras de sementes, com maior destaque para os Estados do Sul e Sudeste, onde lavouras de milho podem ser semeadas entre o início do mês de setembro e meados de novembro. Nesta época, é comum a ocorrência de frentes frias chuvosas, as quais, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, poderão provocar sérios problemas para a germinação e emergência de plântulas (Krzyzanowski et al, 1991).

O princípio do teste de frio baseia-se na exposição das sementes a fatores adversos de baixa temperatura, alta umidade do substrato e principalmente agentes patogênicos, no caso de utilização de solo oriundo de área onde se cultivou a espécie (Barros et al., 1999), estimando assim quais lotes tem maior probabilidade de se estabelecer sob condições desfavoráveis de ambiente. Tal fato ocorre em razão da combinação de baixa temperatura e alta umidade reduzir a aeração, interferindo na germinação das sementes (Hampton e TeKrony, 1995). A maioria das metodologias encontradas para milho sugere que o teste seja realizado a temperatura de 10 °C durante sete dias, procedendo-se posteriormente ao teste de germinação, totalizando assim de 11 a 14 dias para obtenção dos resultados (Barros et al., 1999).

A uniformidade do teste de frio para sementes de milho e a obtenção de resultados consistentes e próximos da padronização são dependentes de alguns fatores, tais como: temperatura (Lovato et al., 2005) e período de exposição a fatores adversos, grau de umidade das sementes (Kikuti et al., 1999), tratamento ou não com fungicida (Von Pinho et al., 1995; Kikuti et al., 1999), disposição das caixas no interior da câmara (Caseiro e Marcos Filho, 2000 e 2002) e método utilizado (Caseiro e Marcos Filho, 2000; Pereira et al., 2008).

Outro teste utilizado para avaliação do vigor de milho é o de envelhecimento acelerado, que tem como princípio o aumento considerável na taxa de deterioração das sementes quando expostas a níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar, considerados os fatores ambientais preponderantes na intensidade e velocidade de deterioração. Assim, sementes de baixa qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, apresentando queda de sua viabilidade, após serem submetidas ao envelhecimento artificial (Marcos Filho, 1999b).

De acordo com a sequência hipotética proposta por Delouche e Baskin (1973), a redução do potencial de armazenamento é a primeira manifestação fisiológica da deterioração, após o decréscimo da velocidade de germinação. Conseqüentemente, o teste de envelhecimento acelerado pode ser considerado um dos mais sensíveis para avaliação do vigor, dentre os disponíveis (Marcos Filho, 1999b).

Neste teste, as sementes absorvem água em ambiente aquecido e úmido, sendo que os resultados do envelhecimento acelerado sofrem influência de diversos fatores, tais como: genótipo, grau de umidade inicial das sementes, temperatura e período de permanência das sementes no interior da câmara de envelhecimento, tratamento fungicida, tamanho da amostra avaliada, distribuição das sementes sobre a tela mantida no interior da caixa plástica e possível abertura da câmara durante o teste (Usbert, 1982; Fessel et al., 2000; Dutra e Vieira, 2004; Vieira et al., 2005; Marcos Filho, 2005).

Por outro lado, as sementes de milho podem ter seu potencial fisiológico avaliado a partir de um teste bioquímico, o teste de tetrazólio. Tal método baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases que catalizam as reações respiratórias nas mitocôndrias, relacionando a viabilidade e o vigor das sementes com a alteração da coloração de tecidos vivos da semente. Neste sentido, há uma reação de oxi-redução com o cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (França Neto, 1999), que resulta na formação de composto estável e não-difusível de coloração avermelhada, o formazan. Esta formação indica atividade respiratória nas mitocôndrias e permite delimitar o tecido vivo daquele que permanece descolorido ou exibe coloração anormal (Marcos Filho, 2005).

Para sementes de milho, os resultados do teste de tetrazólio normalmente correspondem às porcentagens de plântulas normais obtidas em teste de germinação, realizado sob condições altamente favoráveis, incluindo o tratamento fungicida (Dias e Barros, 1999). Pesquisa realizada por Barros e Dias (1995) mostrou que o teste de tetrazólio foi eficiente para identificar lotes de sementes de milho com diferentes níveis de potencial fisiológico,

quando comparado a outros testes de vigor, inclusive com a emergência de plântulas em campo.

Na literatura, existe ainda a recomendação de outros testes que permitem a avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho, apesar de serem utilizados com menor frequência, tais como: condutividade elétrica (Torres, 1998; Gotardo et al., 2001), comprimento de plântula sob estresse hídrico (Torres, 1998; Ávila et al., 2007), deterioração controlada (Padilha et al., 2001) e análises de imagens digitais (Cícero e Banzatto Junior, 2003; Teixeira et al., 2006).

2.2. Testes alternativos de vigor para sementes de milho

2.2.1. Teste de submersão em água

O teste de submersão em água surgiu como alternativa para avaliação do potencial fisiológico de sementes de espécies cuja germinação é afetada pela baixa disponibilidade de oxigênio no solo, ou seja, a avaliação do vigor das sementes é baseada na taxa de sobrevivência à falta de oxigênio (Wrase, 2006).

Para a condução do teste, as sementes são inicialmente embebidas em água, por determinado período e temperatura, para simular o alagamento do solo e, conseqüentemente, a deficiência de oxigênio (Martin et al., 1991); em seguida, realiza-se o teste padrão de germinação.

A embebição de água em sementes maduras viáveis promove reativação dos sistemas metabólicos existentes, ocorrendo à síntese de novos componentes, que conduzem à expansão e divisão celular enquanto a plântula se estabelece (Castro et al., 2004). Entretanto, as sementes podem apresentar respostas variadas aos diversos níveis de embebição, podendo ocorrer a germinação, a sua deterioração ou, em níveis mais críticos, a morte da semente (Duke e Kakefuda, 1981; Motta e Silva, 1999; Copeland e McDonald, 2001).

A velocidade de embebição é afetada, principalmente, pelos seguintes fatores: impermeabilidade do tegumento, composição química, grau de umidade, temperatura, período e área de contato com a água e qualidade das sementes (Bewley e Black, 1984; Marcos Filho, 2005; Taiz e Zeiger, 2006).

Segundo Zucareli et al. (2011), a entrada de água em sementes de milho é regulada por fatores químicos (composição química) e físicos (anatomia). A embebição pode ocorrer por dois diferentes caminhos: rápida entrada de água por meio da camada negra, levando à hidratação do embrião; e pelo movimento de uma frente úmida que penetra no pericarpo, avançando lentamente pelo endosperma (McDonald et al., 1994).

De forma geral, quando as sementes endospermáticas atingem grau de umidade de 25 a 30% e as cotiledonares de 35 a 40, a absorção de água se estabiliza ou aumenta muito pouco, dando início a uma fase estacionária (fase II ou fase *lag*), na qual vai ocorrer a digestão e o transporte ativo das substâncias de reserva. Nesta fase, os potenciais hídricos do meio e da semente ficam muito próximos e, com isso, a absorção de água estabiliza-se (Taylor, 1997). Quando há excesso de água, a disponibilidade de oxigênio para o embrião diminui, reduzindo ou atrasando a germinação em várias espécies (Kozlowsk e Pallardy, 1997).

Neste sentido, durante o alagamento do solo, pode ocorrer injúria por rápida embebição, isto é, entrada rápida em grande quantidade de água no interior das sementes devido à diferença de potencial hídrico entre o interior da semente e o meio no qual ela se encontra, podendo aumentar na fase de embebição de -400MPa até -1MPa, o que reflete considerável entrada de água, induzindo desvio de metabolismo aeróbico para o metabolismo fermentativo (Crawford, 1978; Castro et al, 2004). Desta forma, a semente que já está com alguma injúria tem menor quantidade de energia disponível para o processo germinativo, refletindo em menor vigor (Richard et al., 1991).

Em regiões úmidas e quentes, alguns fatores influenciam a perda de viabilidade e de vigor da semente, como o excesso de chuva logo após a semeadura, considerado limitante à produção por causar deterioração das sementes e levar à menor emergência de plântulas em campo (Duke e Kakefuda, 1981).

Na região Sul do Brasil, a semeadura do milho é realizada, em sua maioria, de setembro até final de novembro, período no qual é comum a ocorrência de chuvas intensas, podendo causar desuniformidade no estabelecimento do estande (Brasil, 2011). Assim, o teste de submersão em água pode ser considerado ferramenta de seleção rápida, barata e eficaz para avaliação do vigor de semente, uma vez que os lotes que apresentarem melhor desempenho no teste terão maior probabilidade de sucesso nas referidas condições de estresse (Martin et al., 1988).

Dantas et al. (2000a e 2000b) verificaram que o teste de submersão em água pode ser uma alternativa promissora para avaliação do vigor de sementes de milho, observando que a

germinação sofre maior inibição quanto mais elevado for o período de submersão e quanto mais distantes forem às temperaturas daquela considerada ideal, que no caso é 27 °C. Em outra pesquisa (Castro, 2002), o teste de submersão em água realizado sob temperaturas de 20 e 25 °C mostrou-se mais adequado para avaliação do vigor de sementes de milho. Martin et al. (1991) ressaltaram que a tolerância da espécie varia de acordo com o genótipo e a temperatura de alagamento.

Custódio et al. (2002 e 2009) estudando o efeito da submersão em água de sementes de feijão verificaram decréscimo na germinação e no vigor à medida que se aumentava o período de exposição. No primeiro trabalho, os autores concluíram que a submersão por oito horas pode causar prejuízos irreversíveis ao estabelecimento da cultura do feijoeiro, sendo que se empregado em laboratório é bom indicativo para diferenciação de níveis de qualidade fisiológica (Custódio et al., 2002). Entretanto, numa segunda pesquisa (Custódio et al., 2009), verificaram que quatro horas de submersão podem ser úteis em análise de rotina para classificar o vigor de lotes de sementes de feijão.

Diferenças na recomendação do período de submersão também foram observadas por Bertolin (2010), o qual indicou a condução do teste para sementes de feijão por 12 horas, constatando que o teste de submersão em água é influenciado pelo genótipo das sementes.

2.2.2. Teste de germinação a baixa temperatura

O teste de germinação a baixa temperatura tem como princípio o fato de que temperaturas baixas nas etapas iniciais de embebição têm efeito prejudicial à germinação e ao desenvolvimento das plântulas, alterando o padrão de germinação e reduzindo a velocidade de emergência. Dessa forma, lotes que apresentam porcentagem de germinação semelhante, mas que diferem no vigor poderão exibir diferenças na porcentagem de emergência de plântulas, permitindo pelos resultados do teste estimar o desempenho em campo, caso os lotes sejam semeados em locais sujeitos a baixa temperatura (Dias e Alvarenga, 1999).

O teste foi inicialmente desenvolvido para avaliar o vigor de sementes de algodão; entretanto, pode ser utilizado para outras espécies, principalmente as cultivadas no verão, uma vez que apresentam maior sensibilidade ao frio (AOSA, 1983).

Conduzido sob condições controladas de laboratório, o teste de germinação a baixa temperatura utiliza temperaturas abaixo da faixa ótima indicada para cada cultura (Dias e

Alvarenga, 1999). Por ser semelhante ao teste padrão de germinação apresenta vantagens, facilitando a sua utilização, uma vez que a instalação e os critérios para interpretação são os mesmos (Alizaga et al., 1990).

A germinação de sementes ocorre sob limites relativamente amplos de temperatura, sendo que os extremos dependem principalmente da espécie e suas características genéticas (Matheus e Lopes, 2009). Cada espécie apresenta temperaturas cardiais para a germinação de sementes, ou seja, a temperatura máxima, mínima e ótima para que o processo aconteça (Marcos Filho, 2005). Para sementes de milho, as temperaturas cardiais são: 9 °C (mínima), 32-35 °C (ótima) e 44 °C (máxima) (Borba et al., 1995).

Em condições ideais de temperatura, oxigênio e água, a absorção pelas sementes obedece ao padrão trifásico. Na fase I, denominada embebição, ocorre rápida entrada de água, em função da grande diferença de potencial entre as sementes e o substrato, independentemente do estado fisiológico das sementes. Na fase II, a velocidade de absorção de água torna-se mais lenta, tendendo para o equilíbrio entre os potenciais, ocorrendo diversas reações metabólicas. Na fase III, com o metabolismo ativado e em função da produção de substâncias osmoticamente ativas, ocorre redução no potencial hídrico das sementes, resultando em rápida absorção de água do meio (Bewley e Black, 1984).

A taxa inicial de embebição e a temperatura podem alterar acentuadamente a germinação e o vigor das sementes, principalmente em sementes grandes (Castro et al., 2004). Quando as sementes estão muito secas, ao entrar em contato com a água, podem sofrer danos irreparáveis, afetando particularmente o sistema de membranas celulares, o que leva a lixiviação de conteúdos celulares, afetando negativamente a germinação (Wolk et al., 1989). A redução gradativa da temperatura aumenta esse dano, em função dos efeitos que causa sobre a velocidade de embebição e a mobilidade de reservas, uma vez que os eixos embrionários submetidos a essas condições perdem substâncias orgânicas (Marcos Filho, 2005).

Em condições de temperaturas baixas, a reorganização das membranas celulares durante a embebição é dificultada, tornando o processo mais lento (Burris e Navratil, 1979), podendo gerar injúria na raiz primária e menor taxa de alongamento do hipocótilo (Christiansen, 1964; Christiansen e Thomas, 1969).

Apesar das sementes da maioria das espécies germinarem numa ampla faixa de temperatura, as exigências serão mais específicas quanto menor for o vigor, sendo a faixa ótima de temperatura para a germinação de sementes com alto vigor muito mais ampla que para sementes de baixo vigor (Dias e Alvarenga, 1999).

Ilbi et al. (2009) trabalhando com sementes de milho salientaram que o teste de germinação a baixa temperatura pode ser alternativa para avaliação do vigor, por seus resultados correlacionarem com os da emergência de plântulas em campo e do teste de frio.

3. ARTIGO – TESTES DE SUBMERSÃO EM ÁGUA E GERMINAÇÃO A BAIXA TEMPERATURA PARA AVALIAÇÃO DE SEMENTES DE *Zea mays* L.

Water submersion and cool germination tests for vigor evaluation of corn seed

3.1. Resumo

A avaliação do potencial fisiológico serve como base para os processos de produção, armazenamento, distribuição e comercialização de sementes. Para tanto, existe a necessidade de novas alternativas para a determinação do vigor, visando facilitar e agilizar os sistemas de produção de sementes. Foram estudadas a combinação de diferentes períodos (24, 36, 48 e 72 h) e temperaturas (20, 25 e 30 °C) de imersão no teste de submersão em água; e várias temperaturas baixas (15 °C por oito dias; 16, 17 e 18 °C por sete dias) para a condução do teste de germinação a baixa temperatura, utilizando-se dois híbridos de milho, representados por cinco lotes cada. Verificou-se a correlação dos resultados dos dois testes com a emergência de plântulas em campo. Os dados obtidos mostraram que dentre os testes estudados, o de submersão em água é o mais promissor para avaliação do vigor de sementes de milho, mediante imersão das sementes por 48 h a 25 °C, apresentando correlações significativas com a emergência em campo ($\rho=0,82^*$ e $0,87^*$) para ambos os híbridos estudados.

Palavras-chave: milho, qualidade fisiológica, controle de qualidade.

3.2. Abstract

The evaluation of physiological potential serves as a basis for the processes of seed production, storage, distribution and commercialization. New procedures to determine vigor are needed in order to facilitate and speed up seed production systems. A combination of different time periods (24, 36, 48 and 72 h) and temperatures (20, 25 and 30 °C) of immersion

for the water submersion test were studied; and various low temperatures (15 °C for eight days; 16, 17 and 18 °C for seven days) for conducting the cool germination test, using two hybrids of corn, and five batches of each. A correlation of the results of the two tests with field seedling emergence was observed. The data showed that the water submersion test is the most promising for evaluating seed vigor in corn by immersing seeds for 48 h at 25 °C, showing significant correlations with field emergence ($\rho=0.82^*$ and 0.87^*) for both hybrids.

Key words: corn, physiological quality, quality control.

3.3. Introdução

O uso de testes de vigor, associado ao teste de germinação, vem sendo utilizado rotineiramente pelas empresas produtoras de sementes dentro do controle interno de qualidade, a fim de estimar o potencial de desempenho das sementes em campo, tanto em condições favoráveis quanto adversas.

Para sementes de milho, o teste de frio é o mais aceito e utilizado na avaliação do vigor (Nijënstein e Kruse, 2000). Entretanto, outros testes tem sido relatados na literatura para determinação do potencial fisiológico de sementes da cultura, como o de envelhecimento acelerado (Fessel et al., 2000; Dutra e Vieira, 2004), tetrazólio (Barros e Dias, 1995; Chamma e Novembre, 2007), condutividade elétrica (Torres, 1998; Gotardo et al., 2001), comprimento de plântulas sob estresse hídrico (Torres, 1998; Ávila et al., 2007), deterioração controlada (Padilha et al., 2001), bem como análises de imagens digitais (Cícero e Banzatto Junior, 2003; Teixeira et al., 2006).

Na região Sul do Brasil, a semeadura do milho é realizada, em sua maioria, de setembro até final de novembro, período no qual é comum a ocorrência de chuvas intensas, podendo ocorrer também baixa temperatura no solo. A ativação do processo germinativo da semente depende diretamente de disponibilidade de água, temperatura e oxigênio. Com base nestes fatores, os testes de submersão em água (Martin et al., 1991; Dantas et al., 2000a e 2000b) e de germinação a baixa temperatura (Dias e Alvarenga, 1999; Ilbi et al., 2009) podem ser considerados opções para avaliação do vigor de sementes de milho.

O teste de submersão em água baseia-se na restrição de oxigênio, ou seja, quando há excesso de água, reduz o oxigênio para o embrião, dificultando a germinação (Kozlowsk e Pallardy, 1997). Para a condução do teste, as sementes são embebidas em água, por período e

temperatura específicos, simulando o alagamento do solo e a deficiência de oxigênio (Martin et al., 1991); posteriormente, realiza-se o teste padrão de germinação. Assim, os lotes que apresentarem melhor desempenho no teste terão maior probabilidade de sucesso em campo nas referidas condições de estresse.

O teste de germinação a baixa temperatura avalia os efeitos prejudiciais de temperaturas baixas nas etapas iniciais de embebição da semente e no desenvolvimento das plântulas, que podem alterar o padrão de germinação e reduzir a velocidade de emergência (Dias e Alvarenga, 1999). Esses efeitos estão diretamente relacionados com a viabilidade e o vigor da semente, pois a reorganização das membranas celulares durante a embebição pode ser dificultada, principalmente em lotes de baixo vigor.

A pesquisa objetivou estudar a metodologia dos testes de submersão em água e germinação a baixa temperatura, procurando verificar sua eficiência na identificação de diferentes níveis de vigor em lotes de sementes de *Z. mays*.

3.4. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR/Brasil, utilizando-se sementes de dois híbridos de milho (30F35R e 30P70H), cada um representado por cinco lotes de sementes, divididos em dois grupos: grupo I – constando de dois lotes que receberam tratamento fungicida (carbendazim); grupo II- composto por três lotes com tratamento fungicida mais inseticida (clotianidina e fipronil).

Inicialmente, os lotes foram homogeneizados pelo método manual, baseando-se nos critérios estabelecidos pelas International Rules for Seed Testing (ISTA, 2011) e divididos em quatro subamostras. Durante o período experimental, as sementes foram armazenadas em sacos de papel do tipo Kraft, sob ambiente controlado (16 °C e 55% de umidade relativa do ar).

As sementes foram submetidas aos seguintes testes para determinação da sua qualidade inicial:

a) Grau de umidade: realizado pelo método de estufa a 105 ± 3 °C, durante 24 horas, com duas repetições de 10 sementes por lote, de acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

b) Germinação: utilizaram-se oito repetições de 25 sementes por lote, semeadas em rolo de papel umedecido com água na quantidade equivalente de 2,5 vezes a massa do substrato e colocadas para germinar a 25 °C. A contagem foi realizada aos cinco dias após a instalação do teste segundo os critérios estabelecidos na International Rules for Seed Testing (ISTA, 2011).

c) Emergência de plântulas em campo: o teste foi conduzido com quatro repetições de 100 sementes por lote, em canteiros preparados sem correção, distribuídas em profundidade uniforme de três centímetros. As avaliações foram realizadas aos 14 dias após a semeadura, por meio da contagem das plântulas emergidas, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas (Nakagawa, 1999).

d) Teste de frio em rolo de papel com terra: utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes por lote, semeadas em rolo de papel toalha umedecido na quantidade equivalente de três vezes a massa do substrato, contendo uma camada fina de terra, obtido de área cultivada anteriormente com a cultura. Os rolos foram colocados em sacos de plástico e levados para câmara fria a 10 °C, onde permaneceram por sete dias (Barros et al., 1999). Após este período, os rolos foram retirados dos sacos e colocados em germinador a 25 °C, durante cinco dias, quando então foi computada a porcentagem de plântulas normais.

Os procedimentos alternativos estudados para avaliação do vigor de sementes de milho foram:

1) Teste de submersão em água: utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes por lote, que foram colocadas em copo de plástico (capacidade de 180 mL), submersas em 100 mL de água durante os períodos de 24, 36, 48 e 72 horas, às temperaturas de 20, 25 e 30 °C.

Após cada período de submersão, as quatro repetições por tratamento foram colocadas para germinar conforme descrito no item b, computando-se a porcentagem de plântulas normais avaliadas no quarto dia após a semeadura. Foi determinado, também, o grau de umidade das sementes após a submersão.

2) Teste de germinação a baixa temperatura: conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, semeadas em rolo de papel umedecido com água em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato e colocadas para germinar: a 15 °C, por oito dias; e a 16, 17 e 18 °C, durante sete dias. As contagens foram realizadas computando-se a porcentagem de plântulas normais (> 4 cm).

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Utilizou-se também o modelo de Spearman para realização da correlação entre as médias do teste de emergência de

plântulas em campo com o dos testes de frio, submersão em água e germinação a baixa temperatura; os coeficientes de correlação (ρ) foram considerados significativos a 5% de probabilidade pelo teste T. As análises foram realizadas sem transformação empregando os sistemas computacionais ASSISTAT (versão 7.6 beta) e MSTAT (versão 5.4). Os dados de grau de umidade não foram analisados estatisticamente.

3.5. Resultados

A qualidade inicial dos lotes de milho, avaliada pelo grau de umidade e testes de germinação, emergência de plântulas em campo e de frio, está apresentada nas tabelas 1 e 2. Pode-se observar que os valores do grau de umidade das sementes do híbrido 30F35R estavam próximos para os cinco lotes estudados, variando de 9,4 a 11,3% (Tabela 1). Quanto à germinação (Tabela 1), os lotes apresentaram como de alto desempenho germinativo (96 a 100%).

Com relação ao vigor (Tabela 1), avaliado pelo teste de emergência de plântulas em campo, os lotes do híbrido 30F35R foram classificados em três níveis: alto (lote 1), intermediário (lotes 2, 3 e 4) e baixo (lote 5). Por outro lado, o teste de frio com terra não conseguiu separar os lotes semelhantemente a emergência em campo, não apresentando correlação significativa ($\rho=0,2$). Assim, o lote 4 foi classificado no teste de frio como o de pior desempenho, sendo que de acordo com a emergência de plântulas em campo o mesmo apresentou vigor intermediário. Além disso, o lote menos vigoroso (lote 5) foi identificado como de qualidade intermediária, contrariando a emergência.

Tabela 1. Grau de umidade, germinação e vigor (emergência de plântulas em campo e teste de frio com terra) de sementes de cinco lotes de milho. Híbrido 30F35R.

<i>Híbrido 30F35R</i>				
<i>Lotes</i>	<i>Grau de umidade</i>	<i>Germinação</i>	<i>Emergência em campo</i>	<i>Teste de frio</i>
%			
1	9,4	97 a	98 a	96 a
2	9,7	97 a	95 ab	93 ab
3	10,5	100 a	97 ab	90 b
4	11,3	96 a	96 ab	86 c
5	9,7	99 a	93 b	92 b
<i>C.V. (%)</i>	-	2,38	2,18	1,55
<i>*Coeficiente de correlação (ρ)</i>		-	-	0,20

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

*Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados médios obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de frio.

Para o híbrido 30P70H (Tabela 2), os valores do grau de umidade dos lotes também foram semelhantes, com variação de 2,1 pontos percentuais entre o maior e o menor grau de umidade. A germinação dos lotes foi estatisticamente igual, variando de 97 a 98%.

No teste de emergência de plântulas em campo (Tabela 2), o lote 6 foi identificado como o mais vigoroso, os lotes 7 e 8 com qualidade intermediária e os lotes 9 e 10 como os de vigor mais baixo. O teste de frio com terra, não foi novamente eficiente para classificar os lotes semelhantemente a emergência (correlação não significativa $\rho=0,15$), uma vez que classificou todos os lotes como de mesma qualidade (Tabela 2).

Tabela 2. Grau de umidade, germinação e vigor (emergência de plântulas em campo e teste de frio com terra) de sementes de cinco lotes de milho. Híbrido 30P70H.

<i>Híbrido 30P70H</i>				
<i>Lotes</i>	<i>Grau de umidade</i>	<i>Germinação</i>	<i>Emergência em campo</i>	<i>Teste de frio</i>
%			
6	10,6	99 a	98 a	97 a
7	10,6	98 a	97 ab	99 a
8	10,5	97 a	96 ab	99 a
9	12,6	99 a	95 b	99 a
10	11,9	98 a	94 b	98 a
<i>C.V. (%)</i>	-	1,69	1,61	1,08
<i>*Coeficiente de correlação (ρ)</i>	-	-	-	0,15

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

*Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados médios obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de frio.

Os coeficientes de correlação de Spearman (ρ) entre os dados médios obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de submersão em água do híbrido 30F35R estão apresentados na Tabela 3. Verificou-se que apenas uma das metodologias estudadas (25 °C, por 48 horas de submersão em água) apresentou correlação significativa (5% de probabilidade), ranqueando os lotes semelhantemente à emergência de plântulas em campo, ou seja, o lote 1 como de alto vigor, os lotes 2, 3 e 4 de vigor intermediário e o lote 5 como menos vigoroso. Nesta metodologia, após o período de submersão, as sementes apresentaram grau de umidade entre 36,0 e 37,4%.

Tabela 3. Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de submersão em água, de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30F35R.

<i>Híbrido 30F35R</i>			
<i>Períodos de submersão (horas)</i>	<i>Temperaturas de submersão</i>		
	<i>20 °C</i>	<i>25 °C</i>	<i>30 °C</i>
	<i>Coeficiente de correlação (ρ)</i>		
24	0,79	0,63	0,22
36	0,41	0,66	0,41
48	0,56	0,82*	0,56
72	0,60	0,70	0,60

*Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste T.

Para o híbrido 30P70H (Tabela 4), o teste de submersão em água foi eficiente para classificar os lotes semelhantemente ao teste de emergência de plântulas em campo em duas das metodologias testadas, apresentando correlação significativa a 5%. A condução do teste a 25 °C, por 24 e 48 horas, permitiram identificar diferenças no potencial fisiológico dos lotes de acordo com a emergência de plântulas em campo, ou seja, classificaram os lotes em três níveis de vigor: alto (lote 6), intermediário (lotes 7 e 8) e baixo (lotes 9 e 10). O grau de umidade dos lotes de sementes variou entre 32,9 e 33,5%, e entre 34,7 e 37,0%, após os períodos de submersão de 24 e 48 horas, respectivamente.

Tabela 4. Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de submersão em água, de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30P70H.

<i>Híbrido 30P70H</i>			
<i>Períodos de submersão (horas)</i>	<i>Temperaturas de submersão</i>		
	<i>20 °C</i>	<i>25 °C</i>	<i>30 °C</i>
	<i>Coeficiente de correlação (ρ)</i>		
24	0,36	0,95*	0,74
36	0,36	0,52	0,70
48	-0,10	0,87*	0,30
72	0,36	0,80	0,20

*Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste T.

Os resultados da correlação de Spearman (ρ) entre as médias dos dados dos testes de germinação a baixa temperatura e emergência de plântulas em campo estão apresentados na Tabela 5. Pode-se observar que para o híbrido 30F35R a condução do teste por sete dias a 16 °C teve correlação significativa a 5%. Por outro lado, no híbrido 30P70H, a metodologia que foi mais adequada para avaliação do vigor foi a de 18 °C, por sete dias (correlação significativa a 5% com a emergência em campo).

Tabela 5. Coeficiente de correlação de Spearman (ρ) entre os dados obtidos nos testes de emergência de plântulas em campo e de germinação a baixa temperatura, de 10 lotes de sementes de milho. Híbridos 30F35R e 30P70H.

<i>Germinação a baixa temperatura</i>	<i>Híbridos</i>	
	<i>30F35R</i>	<i>30P70H</i>
	<i>Coeficiente de correlação (ρ)</i>	
15 °C (8 dias)	0,50	0,50
16 °C (7 dias)	0,95*	0,21
17 °C (7 dias)	0,20	0,30
18 °C (7 dias)	0,50	0,82*

*Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste T.

3.6. Discussão

Os valores do grau de umidade inicial dos lotes de sementes para ambos os híbridos foram próximos (Tabelas 1 e 2). A semelhança entre os graus de umidade dos lotes é muito importante para a execução dos testes, uma vez que a uniformidade desta característica é fundamental para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes. Em testes que expõem as sementes a intensa hidratação, como o de submersão em água, não é recomendado executá-los com amostras cujo grau de umidade apresente variação superior a 2%, pois sementes úmidas estão sujeitas a deterioração mais intensa, interferindo na análise dos resultados (Marcos Filho, 2005).

Na condução de estudos sobre vigor de sementes é importante que os lotes, comercialmente aceitos, utilizados tenham poder germinativo semelhante (conforme verificado nas Tabelas 1 e 2), uma vez que o principal objetivo destes testes é complementar os resultados da germinação, identificando diferenças de qualidade entre lotes que apresentam o potencial de germinação similar.

Para se identificar a eficiência de um teste de vigor, preconiza-se que os resultados obtidos sejam próximos da emergência de plântulas em campo, pois assim o teste estaria estimando o comportamento dos lotes após a semeadura em amplas condições de ambiente (AOSA, 1983; Dias e Alvarenga, 1999; Ilbi et. al., 2009).

Neste sentido, pode-se observar que os resultados obtidos no trabalho, para o teste de frio com terra, não tiveram correlação com a emergência em campo (Tabelas 1 e 2). Nijënstein e Kruse (2000), estudando a padronização do teste de frio em sementes de milho, verificaram que os laboratórios adaptaram metodologias para a condução do teste em análise de rotina, reduzindo sua eficiência e gerando diferenças de resultados entre genótipos e laboratórios. Os autores ressaltaram a necessidade de novas pesquisas para se determinar metodologia padrão de condução do teste de frio, uma vez que é mundialmente utilizado e pode ser influenciado pelo genótipo e pelas diferenças de zonas climáticas.

Outro fator que influencia a padronização da metodologia do teste de frio é a terra utilizada, devido às diferenças de características físicas e químicas e da presença de microrganismos no solo.

Pelos resultados das metodologias estudadas no teste de submersão em água (Tabelas 3 e 4), foi observado que a condução do teste por 48 horas a 25 °C é eficiente na avaliação da qualidade de sementes de milho para ambos os híbridos. A submersão das sementes tanto em

condições de laboratório quanto no encharcamento do solo reduzem ou impedem a germinação (Fausey e McDonald, 1985; Khosravi e Andersen, 1990).

Durante o período de imersão, a disponibilidade de oxigênio é reduzida (Martin et al., 1991) e ocorre a entrada de água em grande quantidade e rapidez no interior das sementes, devido à diferença de potencial hídrico entre o interior da semente e o meio, induzindo o metabolismo fermentativo e ocasionando dano (Crawford, 1978). A semente que já possui algum dano tem menor quantidade de energia disponível para o processo germinativo, resultando assim em baixo vigor (Richard et al., 1991).

Martin et al. (1991) verificaram que a tolerância de milho ao alagamento do solo varia de acordo com o genótipo e a temperatura. Esse fato também foi constatado no presente trabalho, pois para o híbrido 30F35R (Tabela 3) apenas a metodologia de 48 horas a 25 °C teve correlação significativa com a emergência. Por outro lado, para o híbrido 30P70H (Tabela 4), além da submersão por 48 horas, a condução por 24 horas a 25 °C teve correlação significativa. Tais observações evidenciam a importância de se ter utilizado mais de um híbrido na pesquisa, pois os resultados do teste podem sofrer influência do genótipo.

Em condições de baixas temperaturas, a reorganização das membranas celulares durante a embebição é dificultada, tornando o processo mais lento, devido a efeitos bioquímicos (Burriss e Navratil, 1979), podendo gerar injúria na raiz primária e menor taxa de alongamento do hipocótilo (Christiansen, 1964; Christiansen e Thomas, 1969). Assim, é importante avaliar respostas das sementes a condições adversas de temperatura, que podem ocorrer em campo.

No estudo do teste de germinação a baixa temperatura, houve discrepância entre os resultados encontrados nos dois híbridos (Tabela 5). Para o híbrido 30F35R, a metodologia que teve correlação significativa com a emergência em campo foi a que utilizou a temperatura de 16 °C; já para o híbrido 30P70H, a melhor temperatura para a condução do teste foi a de 18 °C. Ilbi et al. (2009), trabalhando também com sementes de milho, verificaram que a realização do teste de germinação a baixa temperatura de 18 °C pode ser alternativa para avaliar diferenças de vigor. Entretanto, pelos resultados obtidos nota-se que a eficiência do teste varia de acordo com o genótipo. Portanto, existe a necessidade de novos estudos visando determinar metodologia consistente para a condução do teste, independentemente do genótipo. A continuidade dos estudos justifica-se pelo fato do teste de germinação a baixa temperatura apresentar a vantagem da semelhança ao teste padrão de germinação, facilitando a sua utilização, uma vez que a instalação e os critérios para interpretação são os mesmos.

Dentre os testes estudados o teste de submersão em água pode ser considerado promissor para avaliação do vigor de sementes de milho, no controle interno de qualidade das empresas sementeiras, mediante imersão das sementes por 48 horas, a 25 °C. Os materiais e equipamentos necessários para a condução desse teste e os critérios para avaliação são os mesmos do teste padrão de germinação, sendo que o tempo para obtenção dos resultados é menor que o do teste de frio.

3.7. Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. (1983). *Seed vigor testing handbook*. East Lansing, 93pp. (Contribution, 32).

ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. (2007). Teste de comprimento de plântula sobre estresse hídrico na avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho. [Seedling length test under water stress on the evaluation of the physiological potential of corn seeds]. *Revista Brasileira de Sementes*, 29 (2), 117-124.

BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L. (1995). O teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de milho. [The tetrazolium test for physiological quality evaluation of corn seeds]. *Informativo ABRATES*, 5 (2), 159.

BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L.; CÍCERO, S.M.; KRZYZANOSWI, F.C. (1999). Testes de frio. In: *Vigor de sementes: Conceitos e Testes*. (Eds. KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B.), cap.5, pp.1-15, ABRATES, Londrina.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2009). *Regras para análise de sementes*. (Eds. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária), MAPA / ACS: Brasília, DF, 395pp.

BURRIS, J.S.; NAVRATIL, R.J. (1979). Relationship between laboratory cold test methods and field emergency in maize inbreds. *Agronomy Journal*, 71 (6), 985-988.

CHAMMA, H.M.C.P.; NOVEMBRE, A.D.L.C. (2007). Teste de tetrazólio para sementes de milho: períodos de hidratação e coloração da sementes. [Tetrazolium test for corn seeds: preconditioning and staining periods]. *Revista Brasileira de Sementes*, 29 (2), 125-129.

CHRISTIANSEN, M.N. (1964). Influence of chilling upon subsequent growth and morphology of cotton seedlings. *Crop Science*, 4, 584-586.

CHRISTIANSEN, M.N.; THOMAS, R.O. (1969). Season long effects of chilling treatments applied to germinatory cotton seed. *Crop Science*, 9, 672-673.

CÍCERO, S.M.; BANZATTO JUNIOR, H.L. (2003). Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. [Evaluation of image analysis in determining the relationship between mechanical damage and seed vigor in maize]. *Revista Brasileira de Sementes*, 25 (1), 29-36.

CRAWFORD, R.M.M. (1978). Metabolic adaptations to anoxia. In: *Plant life in anaerobic environments* (Eds. HOOK, D.D.; CRAWFORD, R.M.M.), pp.119-136, Ann Arbor Science, Ann Arbor.

DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J.; RODRIGUES, J.D. (2000a). Efeito da duração e da temperatura de alagamento na germinação e no vigor de sementes de milho. [Temperature and flooding effects on maize seed germination and vigor]. *Revista Brasileira de Sementes*, 22 (1), 88-96.

DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. (2000b). Teste de Alagamento para avaliação do vigor em sementes de milho. [Flooding test to evaluate the vigor in coorn seeds]. *Revista Brasileira de Sementes*, 22 (2), 288-292.

DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M. (1999). Teste de germinação a baixa temperatura. In: *Vigor de sementes: Conceitos e Testes*. (Eds. KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B.), cap.7, pp.1-4, ABRATES, Londrina.

DUTRA, A.S.; VIEIRA, R.D. (2004). Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. [Accelerated aging as test of vigor for corn and soybean seeds]. *Ciência Rural*, 34 (3), 15-721.

FAUSEY, N.R.; MCDONALD JR, M.B. (1985). Emergence of inbred and hybrid corn following flooding. *Agronomy Journal*, 77 (1), 51-56.

FESSEL, S.A.; RODRIGUES, T.J.D.; FAGIOLI, M.; VIEIRA, R.D. (2000). Temperatura e período de exposição no teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. [Temperature and period of exposure in the accelerated aging test in corn seeds]. *Revista Brasileira de Sementes*, 22 (2), 163-170.

GOTARDO, M.; VIEIRA, R.D.; PEREIRA, L.M.A. (2001). Teste de condutividade elétrica em sementes de milho. [Electrical conductivity test for maize seed]. *Revista Ceres*, 48 (277), 333-340.

ILBI, H.; KAVAK, S.; ESER, B. (2009). Cool germination test can be an alternative vigour test for maize. *Seed Science and Technology*, 37 (2), 516-519.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. (2011). *International rules for seed testing*. Bassersdorf, 369pp.

KHOSRAVI, G.R.; ANDERSEN, I.C. (1990). Pre-emergence flooding and nitrogen atmosphere effects on germinating corn inbreds. *Agronomy Journal*, 82 (2), 495-499.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. (1997). *Growth control in woody plants*. American Press: San Diego, 254pp.

MARCOS FILHO, J. (2005). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. FEALQ: Piracicaba, 495pp.

MARTIN, B.A.; CERWICK, S.F.; REDING, L.D. (1991) Physiological basis for inhibition of maize seed germination by flooding. *Crop Science*, 31 (6), 152-157.

NAKAGAWA, J. (1999). Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: *Vigor de sementes: Conceitos e Testes*. (Eds. KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B.), cap.2, pp.1-24, ABRATES, Londrina.

NIJËNSTEIN, J.H.; KRUSE, M. (2000). The potencial for standardization in cold testing of maize (*Zea mays* L.). *Seed Science and Technology*, 28 (3), 837-851.

PADILHA, L.; VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R.; CARVALHO, M.L.M. (2001). Relação entre o teste de deterioração controlada e o desempenho de sementes de milho em diferentes condições de estresse. [Relationship between controlled deterioration test and maize seed performance under different stress conditions]. *Revista Brasileira de Sementes*, 23 (1), 198-204.

RICHARD, B.; RIVOAL, J.; SPITERI, A. PRADET, A. (1991). Anaerobic stress induces the transcription and translation of sucrose synthase in rice. *Plant Physiology*, 95 (3), 669-674.

TEIXEIRA, E.F.; CÍCERO, S.M.; DOURADO NETO, D. (2006). Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. [Digital image analysis of seedlings for vigor evaluation of corn seeds]. *Revista Brasileira de Sementes*, 28 (2), 159-167.

TORRES, S.B. (1998). Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. [Vigor tests to evaluation of physiological quality of corn seeds]. *Revista Brasileira de Sementes*, 20 (1), 55-59.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Dentre os testes estudados, o de submersão em água é o mais promissor para avaliação do vigor de sementes de milho, mediante imersão das sementes por 48 horas, a 25 °C.

5. REFERÊNCIAS

- ALIZAGA, R.; MELLO, V.D.C.; SANTOS, D.S.B; IRIGON, D.L. Avaliação de testes de vigor em sementes de feijão e suas relações com a emergência em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.12, n.2, p.44-58, 1990.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Estatística: safra 2010**. Brasília: Abrasem, 2011. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/index/pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA. **Seed vigor testing handbook**. East Leasing: AOSA, 1983. 93p. (Contribution, 32).
- ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Teste de comprimento de plântula sobre estresse hídrico na avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.117-124, 2007.
- BAALBAKI, R; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J., McDONALD, M.B. **Seed vigor testing handbook**. Association of Official Seed Analysts. (Contribution, 32 to the Handbook on Seed Testing), 2009. 346 p.
- BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L. O teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de milho. **Informativo ABRATES**, v.5, n.2, p. 159, 1995.
- BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L.; CÍCERO, S.M.; KRZYZANOSWI, F.C. Testes de frio. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.5, p.1-15.
- BERTOLIN, D.C. **Teste de alagamento, deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de feijão**. 2010, 112p. Tese (Doutorado em Agronomia – Especialidade em Sistemas de Produção Vegetal) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, UNESP.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum, 1984. 367 p.
- BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Temperatura e período de exposição de sementes de milho no teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.161-168, 2006.
- BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; ANDREOLI, C.; PURCINO, A.A.C. Germinação de sementes de diversos genótipos de milho tropical (*Zea mays* L.) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.17, n.2, p.141-144, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA /ACS, 2009. 395p.

BRASIL. Portaria 217, de 5 de julho de 2011 (Milho para o Estado de Santa Catarina, ano safra 2011/2012). **Diário Oficial da União**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 19 abr. 2011. Seção I.

BRASIL. Portaria 231, de 5 de julho de 2011 (Milho para o Estado do Rio Grande do Sul, ano safra 2011/2012). **Diário Oficial da União**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 6 jul. 2011. Seção I.

BRASIL. Portaria 232, de 5 de julho de 2011 (Milho para o Estado do Paraná, ano safra 2011/2012). **Diário Oficial da União**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 6 jul. 2011. Seção I.

BURRIS, J.S.; NAVRATIL, R.J. Relationship between laboratory cold test methods and field emergency in maize inbreds. **Agronomy Journal**, v.71, n.6, p.985-988, 1979.

CASEIRO, R.F.; MARCOS-FILHO, J. Métodos alternativos do teste de frio para a avaliação do vigor de sementes de milho. **Scientia Agricola**, v.57, n.3, p.459-466, 2000.

CASEIRO, R.F.; MARCOS FILHO, J. Procedimentos para condução do teste de frio em sementes de milho: pré-resfriamento e distribuição do substrato no interior da câmara fria. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.6-11, 2002.

CASTRO, M.M. **Teste de submersão em água para avaliação de sementes de milho**. 2002, 70p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, UNESP.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: Do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap.9, p.149-162.

CHAMMA, H.M.C.P.; NOVENBRE, A.D.L.C. Teste de tetrazólio para sementes de milho: períodos de hidratação e coloração da sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.125-129, 2007.

CHRISTIANSEN, M.N. Influence of chilling upon subsequent growth and morphology of cotton seedlings. **Crop Science**, v.4, p.584-586, 1964.

CHRISTIANSEN, M.N.; THOMAS, R.O. Season long effects of chilling treatments applied to germinatory cotton seed. **Crop Science**, v.9, p.672-673, 1969.

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

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento, setembro 2011**. Brasília: Conab, 2011. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_09_19_09_49_47_boletim_setembro-2011..pdf>. Acessado em: 17 dez. 2011.

COPELAND, L.O., MCDONALD, M.B. **Principles of Seed Science and Technology**. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 4 ed. 2001. p. 124–128.

CRAWFORD, R.M.M. Metabolic adaptations to anoxia. In: HOOK, D.D.; CRAWFORD, R.M.M. (Ed.). **Plant life in anaerobic environments**. Ann Arbor, Ann Arbor Science, 1978. p.119-136.

CUSTÓDIO, C.C.; MACHADO NETO, N.B.; ITO, H.M.; VIVAN, M.R. Efeito da submersão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.49-54, 2002.

CUSTÓDIO, C.C.; MACHADO NETO, N.B.; MORENO, E.L.C.; VUOLO, B.G. Water submersion of bean seeds in the vigour evaluation. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.3, p.261-266, 2009.

DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J., Teste de Alagamento para avaliação do vigor em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p.288-292, 2000a.

DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J.; RODRIGUES, J.D., Efeito da duração e da temperatura de alagamento na germinação e no vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n. 1, p.88-96, 2000b.

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

DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Metodologia de teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de Sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.8.4 (1-10).

DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M. Teste de germinação a baixa temperatura. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.7, p.1-4.

DUKE, S.H.; KAKEFUDA, G. Role of testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds. **Plant Physiology**, v.67, n.3, p.449-456, 1981.

DUTRA, A.S.; VIEIRA, R.D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.715-721, 2004.

DUTRA, A.S.; MEDEIROS FILHO, S. Teste de deterioração controlada na determinação do vigor em sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p. 19-23, 2008.

FESSEL, S.A.; RODRIGUES, T.J.D.; FAGIOLI, M.; VIEIRA, R.D. Temperatura e período de exposição no teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p. 163-170, 2000.

FRANÇA NETO, J.B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.8, p.1-7.

GOTARDO, M.; VIEIRA, R.D.; PEREIRA, L.M.A. Teste de condutividade elétrica em sementes de milho. **Revista Ceres**, v.48, n.277, p.333-340, 2001.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1995. 117p.

ILBI, H.; KAVAK, S.; ESER, B. Cool germination test can be an alternative vigour test for maize. **Seed Science and Technology**, v.37, n.2, p.516-519, 2009.

KIKUTI, A.L.P.; VON PINHO, E.V.R.; REZENDE, M.L. Estudos de metodologias para a condução do teste de frio em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.175-179, 1999.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. **Growth control in woody plants**. American Press: San Diego, 1997. 254p.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, v.1, n.2, p.15-50, 1991.

LIMA, T.C.; MEDINA, P.F.; FANAN, S. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.1, p.106-113, 2006.

LOVATO, A.; NOLI, E.; LOVATO, A.F.S. The relationship between three cold test temperatures, accelerated ageing test and field emergence of maize seed. **Seed Science and Technology**, v.33, n.1, 249-253, 2005.

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

MARCOS FILHO, J. Testes de Vigor: Importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES, 1999a. cap.1, p.1-21.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b. p.3 (1-24).

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 1. ed. 2005. 495p.

MARTIN, B.A.; CERWICK, S.F.; REDING, L.D. Physiological basis for inhibition of maize seed germination by flooding. **Crop Science**, v.31, n.6, p.152-157, 1991.

MARTIN, B.A.; SMITH, O.S.; O'NIEL, M. Relationships between laboratory germination tests and field emergence of maize inbreds. **Crop Science**, v.28, n.1, p.801-805, 1988.

- MATHEUS, M.T.; LOPES, J.C. Temperaturas cardinais para a germinação de sementes de *Erythrina variegata* L.. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p. 115-122, 2009.
- MCDONALD, M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Associations of Official Seed Analysts**, v.65, p.109-139, 1975.
- MCDONALD, M. B.; SULLIVAN, J. L.; LAUER, M. J. The pathway of water uptake in maize seeds. **Seed Science and Technology**, v. 22, p. 79-90, 1994.
- MOLINA, J.C.; IRIGON, D.L.; ZONTA, E.P. Comparação entre metodologias do teste de frio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.9, n.3, p.77-85, 1987.
- MOTTA, C.A.; SILVA, W.R. Desempenho fisiológico e sanidade de sementes de trigo submetidas a tratamento de hidratação/desidratação. **Scientia Agricola**, v.56, n.3, p.398-406, 1999.
- NIJËNSTEIN, J.H.; KRUSE, M. The potencial for standardization in cold testing of maize (*Zea mays* L.). **Seed Science and Technology**, v.28, n.3, p.837-851, 2000.
- OHLSON, O.C.; KRZYZANOWSKI, F.C.; CAIEIRO, J.T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.118-124, 2010.
- PADILHA, L.; VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R.; CARVALHO, M.L.M. Relação entre o teste de deterioração controlada e o desempenho de sementes de milho em diferentes condições de estresse. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, p.198-204, 2001.
- PEREIRA, L.M.A.; VIEIRA, R.D.; PANIZZI, R.C.; GOTARDO, M. Tratamento fungicida de sementes de milho e metodologias para a condução do teste de frio. **Revista Ceres**, v.55, n.3, p.210-217, 2008.
- RICHARD, B.; RIVOAL, J.; SPITERI, A. PRADET, A. Anaerobic stress induces the transcription and translation of sucrose synthase in rice. **Plant Physiology**, v.95, n.3, p.669-674, 1991.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.
- TAYLOR, A.C. Seed storage, germination and quality. In: WIEN, H.C. (Ed.). **The physiological of vegetable crops**. New York: Academic Press, 1997. p.1-36.
- TEIXEIRA, E.F.; CÍCERO, S.M.; DOURADO NETO, D. Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.159-167, 2006.
- TORRES, S.B. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, n.1, p.55-59, 1998.

USBERTI, R. Influência de tipo de recipiente no teste de envelhecimento acelerado em sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.4, n.1, p.13-22, 1982.

VIEIRA, R.D.; SCAPPA NETO, A.; BITTENCOURT, S.R.M.; PANOBIANCO, M.; VOLPE, C.A. Envelhecimento acelerado em sementes de milho: teor de água da semente e variações na temperatura e umidade relativa do ar em função do tipo de câmara. **Científica**, v.33, n.1, p.7-11, 2005.

VON PINHO, E.V.R.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A.D.; MENTEN, J.O.M.; MORAES, M.H.D. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays*). **Revista Brasileira de Sementes**, v.17, n.1, p.23-28, 1995.

WOLK, W.D.; DILLON, P.F.; COPELAND, L.F.; DILLEY, D.R. Dynamics of imbibitions in *Phaseolus vulgaris* L. in relation to initial seed moisture content. **Plant Physiology**, v.38, p.805-810, 1989.

WRASE, C.F. **Testes de vigor alternativos em sementes de arroz**. 2006, 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção vegetal) – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM.

ZUCARELI, C.; CAVARIANI, C.; OLIVEIRA, E.A.P.; NAKAGAWA, J. Métodos e temperaturas de hidratação na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.3, p. 684-692, 2011.

6. ANEXO

Tabela 6. Vigor avaliado pelo teste de submersão em água de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30F35R.

Lotes	<i>Híbrido 30F35R</i>			
	<i>Períodos de submersão</i>			
	<i>24 h</i>	<i>36 h</i>	<i>48 h</i>	<i>72 h</i>
	<i>Temperatura de 20 °C</i>			
%			
1	99 a	98 a	99 ab	97 ab
2	96 a	95 a	94 b	89 c
3	99 a	100 a	100 a	98 a
4	97 a	96 a	94 b	90 c
5	97 a	98 a	96 ab	91 bc
<i>C.V. (%)</i>	1,61	2,86	2,57	3,03
	<i>Temperatura de 25 °C</i>			
1	100 a	99 a	98 a	97 a
2	96 ab	96 a	96 ab	83 b
3	100 a	98 a	96 ab	96 a
4	90 b	93 a	94 ab	90 ab
5	96 ab	96 a	92 b	95 ab
<i>C.V. (%)</i>	4,03	2,93	2,10	5,63
	<i>Temperatura de 30 °C</i>			
1	97 a	95 a	98 a	84 ab
2	96 a	96 a	89 b	66 c
3	97 a	97 a	98 a	92 a
4	95 a	92 a	87 b	86 a
5	97 a	92 a	95 ab	70 bc
<i>C.V. (%)</i>	3,01	4,29	3,89	9,10

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 7. Grau de umidade de cinco lotes de sementes de milho após período de submersão em água (24, 36, 48 e 72 horas). Híbrido 30F35R.

Lotes	<i>Grau de umidade - híbrido 30F35R</i>			
	<i>Períodos de submersão</i>			
	<i>24 h</i>	<i>36 h</i>	<i>48 h</i>	<i>72 h</i>
<i>Temperatura de 20 °C</i>				
.....%				
1	33,6	35,5	36,5	38,4
2	33,3	34,4	36,1	37,5
3	33,1	34,2	36,6	37,9
4	33,8	34,8	36,3	39,1
5	33,5	33,9	36,1	37,9
<i>Temperatura de 25 °C</i>				
1	33,8	35,9	37,0	38,2
2	33,6	35,7	37,0	38,2
3	33,3	35,2	36,0	38,0
4	34,4	36,9	37,4	39,4
5	33,3	35,0	36,4	37,7
<i>Temperatura de 30 °C</i>				
1	35,8	37,1	35,3	38,6
2	35,5	36,5	37,8	38,3
3	36,0	37,5	37,5	38,6
4	36,4	37,2	38,4	39,1
5	35,0	36,7	36,8	37,7

Tabela 8. Vigor avaliado pelo teste de submersão em água de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30P70H.

Lotes	<i>Híbrido 30P70H</i>			
	<i>Períodos de submersão</i>			
	<i>24 h</i>	<i>36 h</i>	<i>48 h</i>	<i>72 h</i>
	<i>Temperatura de 20 °C</i>			
.....%				
6	100 a	100 a	93 a	95 a
7	94 b	96 a	98 a	95 a
8	99 ab	94 a	97 a	94 a
9	99 a	97 a	95 a	97 a
10	97 ab	96 a	96 a	93 a
<i>C.V. (%)</i>	2,21	2,94	4,53	4,17
<i>Temperatura de 25 °C</i>				
6	99 a	98 a	99 a	93 a
7	99 a	96 a	97 ab	97 a
8	97 a	96 a	98 ab	90 a
9	97 a	98 a	96 b	91 a
10	96 a	94 a	96 b	88 a
<i>C.V. (%)</i>	1,94	2,97	1,22	4,92
<i>Temperatura de 30 °C</i>				
6	99 a	99 a	93 a	88 ab
7	97 a	97 ab	97 a	81 ab
8	95 a	94 ab	89 a	74 b
9	97 a	98 ab	96 a	90 a
10	95 a	93 b	92 a	78 ab
<i>C.V. (%)</i>	2,55	2,69	3,93	8,40

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 9. Grau de umidade de cinco lotes de sementes de milho após período de submersão em água (24, 36, 48 e 72 horas). Híbrido 30P70H.

Lotes	<i>Grau de umidade - híbrido 30P70H</i>			
	<i>Períodos de submersão</i>			
	<i>24 h</i>	<i>36 h</i>	<i>48 h</i>	<i>72 h</i>
	<i>Temperatura de 20 °C</i>			
%			
6	32,1	33,5	35,0	36,1
7	32,5	33,3	34,8	35,8
8	31,3	33,4	33,6	35,9
9	35,5	33,5	36,4	37,4
10	33,8	34,3	35,8	37,4
	<i>Temperatura de 25 °C</i>			
6	33,4	34,8	35,3	38,7
7	32,7	34,5	35,9	38,7
8	32,9	34,1	34,7	37,0
9	33,5	34,4	37,0	38,7
10	33,8	35,2	36,7	39,1
	<i>Temperatura de 30 °C</i>			
6	33,6	34,6	36,9	38,0
7	33,6	36,0	36,2	37,1
8	33,5	34,3	35,9	36,6
9	35,6	36,8	38,1	38,7
10	36,7	37,1	38,1	38,3

Tabela 10. Vigor avaliado pelo teste de germinação a baixa temperatura de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30F35R.

Lotes	Híbrido 30F35R			
	Teste de germinação a baixa temperatura			
	15 °C	16 °C	17 °C	18 °C
%			
1	96 a	98 a	77 c	99 ab
2	91 bc	92 a	75 c	97 ab
3	97 a	98 a	89 a	100 a
4	89 c	94 a	87 ab	95 b
5	95 ab	92 a	79 bc	98 ab
<i>C.V. (%)</i>	2,56	3,04	5,00	2,56

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 11. Vigor avaliado pelo teste de germinação a baixa temperatura de cinco lotes de sementes de milho. Híbrido 30P70H.

Lotes	Híbrido 30P70H			
	Teste de germinação a baixa temperatura			
	15 °C	16 °C	17 °C	18 °C
%			
6	98 a	93 a	97 a	100 a
7	96 a	94 a	90 a	98 a
8	93 a	92 a	93 a	97 ab
9	97 a	96 a	91 a	98 a
10	95 a	92 a	92 a	92 b
<i>C.V. (%)</i>	3,09	2,56	4,33	2,74

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).