**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Injúrias mecânicas em sementes de milho doce

Francisco Guilhien Gomes Junior

**Tese apresentada para obtenção do
título de Doutor em Ciências. Área
de concentração: Fitotecnia**

**Piracicaba
2009**

Francisco Guilhien Gomes Junior
Engenheiro Agrônomo

Injúrias mecânicas em sementes de milho doce

Orientador:

Prof. Dr. **SILVIO MOURE CICERO**

**Tese apresentada para obtenção do
título de Doutor em Ciências. Área
de concentração: Fitotecnia**

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Gomes Junior, Francisco Guilhien

Injúrias mecânicas em sementes de milho doce / Francisco Guilhien Gomes Junior. - -
Piracicaba, 2009.
129 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Germinação 2. Imagem digital 3. Milho 4. Raios X 5. Sementes - Qualidade I. Título

CDD 633.15
G633i

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico

A Deus

Por ser Deus

Ofereço

Aos meus pais

Francisco Guilhien Gomes

Libenir Jorge Gomes

A quem continuamente empenho minha honra

Aos meus irmãos

Cássia Jorge

Rosângela Guilhien Gomes Rocha

Ricardo Guilhien Gomes

Por todo apoio, intercessão, incentivo e companheirismo

Aos meus sobrinhos

Heloisa Vieira Gomes

João Gabriel Gomes Rocha

Sobre os quais libero as palavras de um futuro promissor e irrigado pelas bênçãos do Senhor, marcado pela conquista

“Deus não joga dados”

Qual é o significado da vida? A procura pelo sentido da vida tem intrigado milhões de pessoas por centenas de dezenas de anos. Na tentativa de definir o propósito de suas vidas muitos olham para si mesmos; buscam no trabalho excessivo, na ostentação das riquezas, no conhecimento, nas boas obras, no *status* e no poder a solução para preencher o espaço da última peça do quebra-cabeça da alma. Nestas experiências, o Homem então conclui que embora tais condutas propiciem satisfação, esta é efêmera e incapaz de produzir paz. Outros, geridos pela correnteza da desilusão, se enveredam pelos caminhos da promiscuidade, dos vícios, da imoralidade e das paixões, dos quais se tornam reféns e, indistintamente, conduzem a um único fim: contribuir para que o abismo se torne cada vez mais largo nas profundezas de seus corações frios. Então, qual é o sentido da vida? Na verdade o entendimento desta questão só é possível quando o Homem deixa de analisá-la olhando para dentro de si mesmo e passa a ponderar segundo os olhos do Criador, o Autor da vida. Afinal, conforme Albert Ainsten, *“Deus não joga dados”*. Portanto, é de se supor que nada surpreende Deus, nada acontece por acaso, tudo advém segundo um propósito minuciosamente predefinido por Ele. Sendo Deus o engenheiro do Homem, tem a ciência exata sobre qual peça encaixar no quebra-cabeça. Por essa razão, por meio da sua infinita misericórdia e seu incondicional e imensurável amor por cada ser humano é que enviou Jesus Cristo a este mundo, para que todo aquele que nele crer não pereça, mas tenha a vida eterna. “Porque Deus tanto amou o mundo que deu o seu Filho Unigênito, para que todo o que nele crer não pereça, mas tenha a vida eterna. Pois Deus enviou o seu Filho ao mundo, não para condenar o mundo, para que este fosse salvo por meio dele” (Bíblia, João 3:16 e 17). Esta é a chave para que uma pessoa alcance a vida abundante e com significado: reconhecer o Senhor Jesus como único e suficiente salvador, arrepender dos seus pecados e ser seu discípulo. O remédio para cura do coração do Homem é real: Jesus; o manual para que sejamos seus discípulos também já nos foi concedido: a Bíblia. Entretanto, o que parece imperar no mundo é a insegurança e o descrédito à palavra de Deus. Muitos não leem as Sagradas Escrituras alegando tratar-se de um livro manipulado pelos homens, mas na verdade não o fazem porque são confrontados e preferem não abrir mão da vida de pecado que levam; optam por buscar na religião a solução para este problema e no fim acabam confundindo Deus com religião e se afastam dos dois. Jesus não foi crucificado em vão! O físico e filósofo francês Blaise Pascal falou da necessidade que o Homem tem de Jesus, quando disse: “Existe no coração humano um vazio do tamanho de Deus, o qual, somente Jesus Cristo pode preencher.” É profundamente lamentável que muitos, vencidos pelo próprio orgulho, abrem mão do melhor de Deus para suas vidas. Veem ao mundo, constroem os seus castelos, existem como se nunca tivessem vivido e passam pela vida sem nunca terem experimentado o seu verdadeiro e real significado.

Cordialmente,

O autor

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a Deus pela graça da vida abundante por meio de Jesus Cristo, pela sabedoria e força suficientes para desenvolver e concluir este trabalho e pela oportunidade de convívio com personalidades como o professor Silvio Moure Cicero, a quem agradeço e congratulo pela brilhante orientação; neste panorama incluo também o professor Julio Marcos Filho e a professora Ana Dionisia da Luz Coelho Novembre pelas valiosas sugestões e ensinamentos transmitidos, fundamentais para o sucesso desta obra. Não poderia deixar de mencionar ainda a participação da Helena Maria Carmignani Pescarim Chamma por todo o apoio nas análises laboratoriais das avaliações do potencial fisiológico, menção esta que também é digna à Maria Heloisa Duarte de Moraes por proporcionar indispensável suporte nas análises patológicas das sementes e ao Hodair Luiz Banzatto Junior nas análises de imagens. Devidos reconhecimentos igualmente são atribuídos aos professores Miller B. McDonald e Mark A. Bennett da *The Ohio State University*, EUA, pela orientação nas avaliações do vigor das sementes por meio do SVIS®. Pelo constante apoio e orientação nos procedimentos concernentes às obrigatoriedades acadêmicas ao longo do curso, estendo os meus agradecimentos à secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia Luciane Aparecida Lopes de Toledo e ao secretário do setor de Tecnologia de Sementes Rafael Augusto Aragon Rodrigues. É importante mencionar também que o êxito desta obra não seria alcançado sem a colaboração dos funcionários Adilson de Jesus Teixeira, Claudinei Martins Valério e João Elias Jabur Filho, bem como dos companheiros de jornada Bruna Gagliardi, José Luis de Marchi, Leandro Boncompagni, Marcos Altomani Neves Dias, Nathalie Bonassa, Nilce Naomi Kobori, Pedro Henrique Santin Brancalion, Renata Oliveira Alvarenga, Simone Aparecida da Silva, Taís Leite Ferreira Pinto, Tathiana Silva Timóteo, Tereza Cristina de Carvalho, Túlio Lourenço Pupim, Victor Augusto Forti e Vitor Henrique Vaz Mondo. Reconhecimento também é merecido às equipes de Divisão de Biblioteca e Documentação e do Serviço de Pós-Graduação pelo eficiente trabalho desenvolvido e ao professor Antonio Augusto Bianchi pela revisão dos *abstracts*. Por último, mas não menos importante agradeço à Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pelo suporte intelectual durante o curso de doutorado, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro e à empresa Dow AgroSciences® pela cessão das sementes.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	19
1 INTRODUÇÃO	23
2 POTENCIAL FISIOLÓGICO E SANIDADE DE SETE CLASSES DE SEMENTES DE MILHO DOCE EXPOSTAS ÀS INJÚRIAS MECÂNICAS	25
Resumo	25
Abstract	25
2.1 Introdução	26
2.2 Desenvolvimento	28
2.2.1 Material e métodos	28
2.2.2 Resultados e discussão	33
2.3 Conclusões	49
Referências	50
3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE MILHO DOCE EXPOSTAS ÀS INJÚRIAS MECÂNICAS, INCLUINDO A ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE IMAGENS	53
Resumo	53
Abstract	54
3.1 Introdução	54
3.2 Desenvolvimento	57
3.2.1 Material e métodos	57
3.2.2 Resultados e discussão	62
3.3 Conclusões	91
Referências	92
4 UTILIZAÇÃO DA ANÁLISE DE IMAGENS PARA AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INJÚRIAS MECÂNICAS EM SEMENTES DE MILHO DOCE	95
Resumo	95
Abstract	95
4.1 Introdução	96
4.2 Desenvolvimento	98

4.2.1 Material e métodos	98
4.2.2 Resultados e discussão	102
4.3 Conclusões	127
Referências.....	127

RESUMO

Injúrias mecânicas em sementes de milho doce

A semente de milho doce tem sido considerada sensível às injúrias mecânicas, o que pode acarretar em prejuízos à sua qualidade. Os objetivos desta pesquisa foram avaliar o potencial fisiológico, incluindo o sistema computadorizado de avaliação do vigor (SVIS®), e a sanidade de sementes de milho doce expostas às injúrias mecânicas, bem como avaliar a eficiência da análise de imagens na identificação de injúrias mecânicas nas sementes e sua relação com a germinação e o vigor. Sementes do híbrido 'SWB 551' (*sh2*) com formato esférico (E) e achatado (A) foram classificadas como grandes (G), médias (M1, M2 e M3) e pequenas (P) por meio de peneiras com perfurações circulares e oblongas. Assim, foram constituídas as classes EG [22 (8,73 mm)], EM1 [20 (7,94 mm)], EM2 [18 (7,14 mm)], EP [16 (6,35 mm)], AG [22 x ¾ (8,73 mm x 19,05 mm)], AM3 [20 x ¾ (7,94 mm x 19,05 mm)] e AP [16 x ¾ (6,35 mm x 19,05 mm)]. As sementes foram expostas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (0, 1, 3, 5 e 7 impactos) utilizando o equipamento *BC Impact Simulator* (modelo 2000, Dow AgroSciences®). A pesquisa foi realizada em dois anos consecutivos, sendo que, no primeiro, foram avaliados os efeitos das injúrias sobre o potencial fisiológico e a sanidade das sete classes de sementes (sem tratamento químico), contendo teor de água de 11% (b.u.) no momento das injúrias. No segundo ano, foram avaliadas apenas as sementes de formato achatado (classes AG, AM3 e AP), tratadas com fungicidas e inseticidas, que foram expostas às injúrias com teor de água de 11% e 20% (b.u.). A qualidade das sementes foi avaliada no início e no final do período de cinco e seis meses de armazenamento (20°C e 50-60% de UR do ar) no primeiro e segundo ano, respectivamente. Avaliaram-se a germinação e o vigor (primeira contagem de germinação, condutividade elétrica, envelhecimento acelerado e teste de frio). A avaliação da sanidade, no primeiro ano, e do vigor pelo SVIS®, no segundo, foi realizada apenas após cinco e dez meses de armazenamento, respectivamente. Durante os dois anos, sementes de cada classe foram radiografadas (15 kV, 300 s) e submetidas a testes de germinação e de frio, sendo as plântulas normais, as anormais e as sementes mortas provenientes destes testes fotografadas e analisadas paralelamente às respectivas imagens radiográficas das sementes. Conclui-se que o aumento do percentual de sementes de milho doce com injúrias mecânicas no pericarpo está diretamente relacionado com o número de impactos que as sementes são submetidas, porém, não há efeito prejudicial sobre o potencial fisiológico e a sanidade das sementes; o SVIS® é uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes de milho doce; a análise de imagens é eficiente na identificação de injúrias mecânicas, permitindo estabelecer as relações entre sua ocorrência e os prejuízos causados à germinação e ao vigor.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Germinação; Vigor; Qualidade de sementes; Raios X; SVIS

ABSTRACT

Mechanical damage in sweet corn seeds

Sweet corn seed has been considered sensitive to mechanical damage that may adversely affect its quality. The objectives of this research were to evaluate the physiological potential, including an automated system for seedling evaluation (SVIS®), and health of sweet corn seeds subjected to the mechanical damage as well as to evaluate the efficiency of image analysis to identify mechanical damage in the seeds and its relationship with germination and vigor. Seeds from hybrid 'SWB 551' (*sh2*) of spherical (S) and flat (F) shapes were classified as large (L), medium (M1, M2 and M3) and small (S) through round and oblong screens. Thus, the classes SL [22 (8.73 mm)], SM1 [20 (7.94 mm)], SM2 [18 (7.14 mm)], SS [16 (6.35 mm)], FL [22 x $\frac{3}{4}$ (8.73 mm x 19.05 mm)], FM3 [20 x $\frac{3}{4}$ (7.94 mm x 19.05 mm)] and FS [16 x $\frac{3}{4}$ (6.35 mm x 19.05 mm)] were established. Seeds were submitted to different levels of damage (0, 1, 3, 5 and 7 impacts) using the *BC Impact Simulator (model 2000, Dow AgroSciences®)* equipment. The research was carried out for two successive years. In the first, it was evaluated the mechanical damage effects on physiological potential and health of the seven seed classes (without chemical treatment) presenting 11% (w.b.) of moisture content at the moment of the mechanical damage. In the second year, only the seeds (treated with fungicides and insecticides) with flat shape (classes FL, FM3 and FS), submitted to mechanical damage presenting 11% and 20% (w.b.) of moisture content were evaluated. Seed quality at the beginning and after five and six months of storage (20°C, 50-60% RH) for the first and second year, respectively, was evaluated. Germination and vigor (germination first count, electrical conductivity, accelerated aging and cold tests) were assessed. Seed health in the first year and vigor (SVIS®) in the second it was evaluated only after five and ten months of storage, respectively. In the course of the two years, seeds from each class were X-rayed (15 kV, 300 s) and submitted to germination and cold tests. Digital images of the normal and abnormal seedlings and ungerminated seeds from germination and cold tests jointly were analyzed by X-ray. In conclusion, the increase of the percentage of sweet corn seed with injuries in the pericarp is directly related with the impact numbers that the seeds are submitted to, however, there is no negative effect on physiological potential and seed health. SVIS® is a viable alternative to evaluate sweet corn seed vigor. Image analysis is efficient to identify mechanical damage in sweet corn seeds, allowing the establishment of a relationship between its occurrence and losses in germination and vigor.

Keywords: *Zea mays* L.; Germination; Vigor; Seed quality; X-ray; SVIS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem representativa das classes de sementes e sua localização na espiga	29
Figura 2 – <i>BC Impact Simulator</i> – modelo 2000, Dow AgroSciences®	30
Figura 3 – Resultados de germinação de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.)	67
Figura 4 – Resultados de primeira contagem de germinação (PCG) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.)	68
Figura 5 – Resultados do teste de condutividade elétrica (CE) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.)	69
Figura 6 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (EA) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.)	70
Figura 7 – Resultados do teste de frio (TF) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.)	71
Figura 8 – Resultados de germinação de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses	74
Figura 9 – Resultados de primeira contagem de germinação (PCG) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses	75
Figura 10 – Resultados do teste de condutividade elétrica (CE) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses	76

- Figura 11 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (EA) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses 77
- Figura 12 – Resultados do teste de frio (TF) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses 78
- Figura 13 – Índices de crescimento e de uniformidade obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® da classe G submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses 79
- Figura 14 – Índices de vigor obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® da classe G submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses 81
- Figura 15 – Índices de crescimento e de uniformidade obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® da classe M submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses 83
- Figura 16 – Índices de vigor obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® da classe M submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses 85
- Figura 17 – Índices de crescimento e de uniformidade obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® da classe P submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses 86
- Figura 18 – Índices de vigor obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® da classe P submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses 88
- Figura 19 – Imagens avaliadas por meio do SVIS® obtidas a partir de sementes milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, lote A, submetidas às injúrias mecânicas com teor de água (b.u.) de 20% (A, C e E: classes G, M e P, índices de vigor “Vigor Index” = 571, 457 e 326, respectivamente) e 11% (B, D e F: classes G, M e P, “Vigor Index” = 652, 575 e 381, respectivamente) 89

- Figura 20 – Imagens avaliadas por meio do SVIS® obtidas a partir de sementes milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, lote B, submetidas às injúrias mecânicas com teor de água (b.u.) de 20% (A, C e E: classes G, M e P, índices de vigor “Vigor Index” = 670, 535 e 377, respectivamente) e 11% (B, D e F: classes G, M e P, “Vigor Index” = 760, 726 e 569, respectivamente) 90
- Figura 21 – Esquema do processo de avaliação das injúrias mecânicas nas sementes milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® por meio da análise de imagens 101
- Figura 22 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada três vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas não severas no embrião e severas no endosperma (nota 2.3), originando plântula anormal (b) no teste de germinação 115
- Figura 23 – Imagem radiográfica de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AP, arremessadas cinco vezes (a) e uma vez (c) contra a placa metálica, caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas ausentes no embrião e severas no endosperma (nota 1.3), originando plântula normal nos testes de germinação (b) e de frio (d)..... 116
- Figura 24 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada sete vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas ausentes no embrião e não severas no endosperma (nota 1.2), originando plântula normal (b) no teste de frio..... 116
- Figura 25 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada uma vez contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas não severas no embrião e no endosperma (nota 2.2), originando plântula normal (b) no teste de germinação 117
- Figura 26 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessada uma vez contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e ausentes no endosperma (nota 3.1), originando plântula anormal (b) no teste de germinação 117
- Figura 27 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessada três vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando plântula anormal (b) no teste de germinação 118
- Figura 28 – Imagem radiográfica de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessadas sete vezes contra a placa metálica (a, c), caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e ausentes no endosperma (nota 3.1), originando plântulas anormais nos testes de germinação (b) e de frio (d) 119
- Figura 29 – Semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada uma vez contra a placa metálica apresentando, externamente, injúrias mecânicas no

pericarpo (a) e por meio do teste de raios X, injúrias mecânicas severas no eixo embrionário e não severas no endosperma (nota 3.2) (b), originando plântula anormal (c) no teste de germinação..... 120

Figura 30 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada três vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando plântula anormal (b) no teste de frio 121

Figura 31 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada cinco vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando semente morta (b) no teste de frio..... 121

Figura 32 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada sete vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando dano mecânico severo no embrião e não severo no endosperma (nota 3.2), originando semente morta (b) no teste de frio 122

Figura 33 – Imagem radiográfica de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessadas cinco (a) e três (c) vezes contra a placa metálica, caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e no endosperma (nota 3.3), originando semente morta nos testes de germinação (b) e de frio (d)..... 123

Figura 34 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AP, arremessada cinco vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas não severas no embrião e severas no endosperma (nota 2.3), originando plântula anormal (b) no teste de germinação 124

Figura 35 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada uma vez contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando plântula normal (b) no teste de frio 125

Figura 36 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe EG, arremessada cinco vezes contra a placa metálica (a), com suspeita de ter apresentando injúrias mecânicas severas no embrião, originando plântula anormal (b) no teste de germinação..... 126

Figura 37 – Imagens radiográficas de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® de formato esférico, classes EG (a), EM1 (b), EM2 (c) e EP (d). A morfologia externa peculiar deste tipo de semente dificultou a análise das imagens de raios X. Observa-se que devido às curvaturas do pericarpo da semente, aparecem áreas claras nas imagens, dificultando a visualização do eixo embrionário..... 126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das classes de sementes, sigla, crivo e dimensões dos crivos para classificação das sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®	29
Tabela 2 – Massa de mil sementes (M1000S), teor de água inicial (TAI) e teor de água após o teste de envelhecimento acelerado (TA-EA) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos).....	34
Tabela 3 – Teor de água inicial (TAI) e teor de água após o teste de envelhecimento acelerado (TA-EA) de sete classes de sementes (CS) de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroScience® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses	34
Tabela 4 – Percentuais de sementes com injúrias no pericarpo de sete classes sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, avaliados pelo teste de tintura de iodo, após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos).....	35
Tabela 5 – Resultados de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)	36
Tabela 6 – Resultados de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses	37
Tabela 7 – Resultados de primeira contagem de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos).....	39
Tabela 8 – Resultados de primeira contagem de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses	40
Tabela 9 – Resultados do teste de condutividade elétrica ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos).....	41
Tabela 10 – Resultados do teste de condutividade elétrica de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses.....	42
Tabela 11 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos).....	42

Tabela 12 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses ...	43
Tabela 13 – Resultados do teste de frio (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)	45
Tabela 14 – Resultados do teste de frio (%) de sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses	45
Tabela 15 – Percentuais médios de incidência de fungos em sete classes de sementes de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, após serem submetidas as injúrias mecânicas e armazenadas durante cinco meses	48
Tabela 16 – Percentual de sementes injuriadas, identificadas por meio de raios X, em dois lotes (A e B) de cada classe de semente (G, M e P) de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20%	62
Tabela 17 – Critérios utilizados para a caracterização das notas em função das injúrias mecânicas observadas no embrião e no endosperma da semente de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® por meio das imagens de raios X	100
Tabela 18 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos), que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e número de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 500 sementes para cada classe de semente de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® EG, EM1, EM2 e EP	103
Tabela 19 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos), que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e número de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 500 sementes para cada classe de semente de milho doce (<i>sh2</i>) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® EG, EM1, EM2 e EP	105
Tabela 20 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo	

percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP..... 108

Tabela 21 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP 109

Tabela 22 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 20%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP..... 110

Tabela 23 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 20%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP 111

Tabela 24 – Descrição e percentual de ocorrência dos principais tipos de injúrias observadas em sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® avaliadas por meio do teste de raios X..... 114

1 INTRODUÇÃO

O milho doce (*Zea mays* L.), tradicionalmente cultivado e consumido nos Estados Unidos e Canadá, vem ganhando importância no cenário agrícola nacional. As empresas produtoras de sementes instaladas no Brasil tem se mobilizado no sentido do desenvolvimento de híbridos adaptáveis às diferentes regiões do país.

Os grãos verdes deste cereal, que são utilizados exclusivamente para o consumo humano, constituem-se em um alimento saboroso e nutritivo cujo mercado de exportação apresenta potencial de ampliação, além de comporem importante alternativa para o abastecimento do mercado nacional. A aceitabilidade do produto pelos consumidores deve-se, além do sabor adocicado, conferido pela presença de alelos mutantes que bloqueiam a conversão de açúcares em amido no endosperma, à maciez de pericarpo, que está diretamente relacionada com a sua espessura, ou seja, quanto mais fino, mais tenro. A textura e espessura do pericarpo, portanto, é um fator primordial na determinação da qualidade do milho doce e altamente desejável nos trabalhos de melhoramento.

O sucesso da atividade de produção de milho doce, assim como o de qualquer outra espécie multiplicada por sementes, se inicia com a utilização de sementes de alta qualidade. O baixo potencial fisiológico das sementes de milho doce é um dos principais entraves enfrentados pelos agricultores; além de apresentarem menor germinação em relação ao milho comum, as sementes possuem baixos vigor e potencial de armazenamento. Ainda, a colonização destas sementes por fungos durante a maturação ou na pós-colheita é amplamente favorecida devido ao alto teor de açúcares solúveis no endosperma e às aberturas provocadas no tegumento das sementes secas. Durante o processo de secagem, ocorre a formação de espaços vazios entre o fino pericarpo e a camada de aleurona, tornando-o sensível às quebras que poderão constituir em porta de entrada para microrganismos nocivos à germinação. Depois de secas, as sementes colhidas em espiga são debulhadas por meio de debulhadores mecânicos e, durante o beneficiamento, antes de serem embaladas, passam por uma série de máquinas e equipamentos, sendo, através destas etapas, expostas mais intensamente à ocorrência de injúrias mecânicas, visto que estas também podem ocorrer durante a secagem, armazenamento e semeadura.

A ocorrência de injúrias mecânicas em sementes é um assunto de preocupação constante entre pesquisadores e produtores, pois trata-se de um fator inevitável frente à mecanização das operações da indústria moderna. O controle, ou seja, a minimização da ocorrência destas injúrias deve ser priorizada dentro do processo de produção de sementes visto que podem acarretar em danos significativos à qualidade das sementes, especificamente com relação aos atributos físico, fisiológico e sanitário. As injúrias mecânicas podem tanto provocar danos imediatos, caracterizados por trincas das sementes e causando imediata redução do potencial fisiológico, quanto danos latentes que estão associados a trincas ou lesões dos tecidos expostos às injúrias com teor de água elevado (maior que 16%), causando expressivas perdas do vigor após o armazenamento. Ainda, a deterioração da semente pode ser acelerada devido à formação de centros de infecção por fungos a partir dos locais injuriados.

A facilidade com que os patógenos se associam às sementes de milho doce indica a necessidade da prevenção contra injúrias mecânicas no sentido da preservação do seu potencial fisiológico e da sua sanidade, assegurando a uniformidade da germinação e do desenvolvimento da cultura no campo. Entretanto, para a obtenção de informações concretas relacionadas com este assunto, torna-se imprescindível a atuação da pesquisa em Tecnologia de Sementes, que nos últimos anos tem experimentado significativos avanços com a automatização das avaliações e a utilização de técnicas de análise de imagens.

Diante do exposto, os objetivos desta pesquisa foram avaliar o potencial fisiológico, incluindo um sistema computadorizado de avaliação do vigor (*SVIS*®), e a sanidade de sementes de milho doce expostas às injúrias mecânicas, bem como avaliar a eficiência da análise de imagens na identificação de injúrias mecânicas nas sementes e sua relação com a germinação e o vigor.

2 POTENCIAL FISIOLÓGICO E SANIDADE DE SETE CLASSES DE SEMENTES DE MILHO DOCE EXPOSTAS ÀS INJÚRIAS MECÂNICAS

Resumo

A semente de milho doce tem sido considerada sensível às injúrias mecânicas, o que pode afetar negativamente a sua qualidade. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial fisiológico e a sanidade de sete classes de sementes de milho doce submetidas às injúrias mecânicas. Sementes do híbrido 'SWB 551' (*sh2*) com formato esférico (E) e achatado (A) foram classificadas como grandes (G), médias (M1, M2 e M3) e pequenas (P) por meio de peneiras com perfurações circulares e oblongas. Assim, foram constituídas as classes EG [22 (8,73 mm)], EM1 [20 (7,94 mm)], EM2 [18 (7,14 mm)], EP [16 (6,35 mm)], AG [22 x $\frac{3}{4}$ (8,73 mm x 19,05 mm)], AM3 [20 x $\frac{3}{4}$ (7,94 mm x 19,05 mm)] e AP [16 x $\frac{3}{4}$ (6,35 mm x 19,05 mm)]. As sementes, com teor de água de 11% (b.u.) foram expostas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (0, 1, 3, 5 e 7 impactos) utilizando o equipamento *BC Impact Simulator* (modelo 2000, Dow AgroSciences®). Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e armazenadas durante cinco meses em ambiente controlado (20°C e 50-60% de UR do ar). A qualidade das sementes foi avaliada no início e no final do período de armazenamento. A ocorrência das injúrias foi avaliada pelo teste de tintura de iodo. Houve aumento do percentual de sementes com injúrias em função dos impactos, com intensidade variável entre as classes de sementes EG (48,9%), EM1 (38,0%), EM2 (36,4%), EP (36,6%), AG (33,8%), AM3 (33,7%) e AP (30,6%). Não houve efeito das injúrias sobre a germinação e a sanidade das sementes, avaliada após o armazenamento. O efeito dos impactos sobre o vigor (avaliado pela primeira contagem de germinação, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado) foi baixo. Foi observada alta relação entre a ocorrência de injúrias mecânicas e a perda do vigor pelo teste de frio após o armazenamento. Conclui-se que o aumento do percentual de sementes de milho doce com injúrias mecânicas no pericarpo está diretamente relacionado com o número de impactos que as sementes são submetidas e com a perda do vigor, avaliada pelo teste de frio; porém, não há efeito prejudicial sobre a germinação e a sanidade das sementes.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Germinação; Vigor

PHYSIOLOGICAL POTENTIAL AND HEALTH OF SEVEN SWEET CORN SEED CLASSES SUBJECTED TO MECHANICAL DAMAGE

Abstract

Sweet corn seed has been considered sensitive to mechanical damage that may adversely affect its quality. The objective of this research was to evaluate the physiological potential and health of seven sweet corn seed classes subjected to the mechanical damage. Seeds from hybrid 'SWB 551' (*sh2*) of spherical (S) and flat (F) shapes were classified as large (L), medium (M1, M2 and M3) and small (S) through round and oblong screens. Thus, the classes SL [22 (8.73 mm)], SM1 [20 (7.94 mm)], SM2 [18 (7.14 mm)], SS [16 (6.35 mm)], FL [22 x $\frac{3}{4}$ (8.73 mm x 19.05 mm)], FM3 [20 x

$\frac{3}{4}$ (7.94 mm x 19.05 mm)] and FS [16 x $\frac{3}{4}$ (6.35 mm x 19.05 mm)] were established. Seeds with 11% of moisture content (w.b.) were subjected to different levels of damage (0, 1, 3, 5 and 7 impacts) using the *BC Impact Simulator (model 2000, Dow AgroSciences®)* equipment. Seeds were, then, packed in paper bags and stored for five months in a controlled environment (20°C, 50-60% RH). Seed quality at the beginning and final storage period was evaluated. The damage occurrence was evaluated by iodine test. The percentage of damage seeds increased due to the impacts, with variable intensity among seed classes SL (48.9%), SM1 (38.0%), SM2 (36.4%), SS (36.6%), FL (33.8%), FM3 (33.7%) and FS (30.6%). Effects of the mechanical damage on germination and seed health (evaluated after storage) were not observed. Vigor (evaluated by first germination count, electrical conductivity and accelerated aging) showed low influence of impacts. High relationship between mechanical damage and vigor loss was observed by cold test after storage. In conclusion, the increase of the percentage of sweet corn seed with injuries in the pericarp is directly related to the numbers of impact that the seeds are submitted to and to the vigor loss evaluated by cold test; however there is no effect on germination and seed health.

Keywords: *Zea mays* L.; Germination; Vigor

2.1 Introdução

As injúrias mecânicas são consideradas um dos principais fatores que afetam negativamente a qualidade de sementes (BEWLEY, BLACK, 1994). Podem ser provocadas na colheita, secagem, debulha, beneficiamento, transporte, armazenamento e semeadura (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000) e causar prejuízos ao potencial fisiológico e à sanidade das sementes (TUIE et al., 1985; PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995; FESSEL et al., 2003). São detectadas por quebras de tamanhos microscópicos até quebras maiores na semente, facilmente visíveis a olho nu e também injúrias internas no embrião (SOAVE, MORAES, 1987). Perdas significativas do vigor de sementes de milho tem sido observadas devido ao aumento das injúrias provocados tanto por abrasão (BORBA et al., 1994; PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995; MARCHI et al., 2006) quanto por impactos consecutivos contra superfícies metálicas (PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995). Em sementes de milho doce a redução do percentual de plântulas emersas no teste de frio foi de até 51% a partir de sementes colhidas mecanicamente em comparação àquelas colhidas e trilhadas manualmente (NASCIMENTO, PESSOA, BOITEUX, 1994).

Entre os fatores que influenciam a ocorrência de injúrias mecânicas em sementes destacam-se as características da própria semente, como tamanho, forma, espessura do tegumento, tipo de tecido de reserva e posição do eixo embrionário (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000). Pesquisas tem mostrado que sementes esféricas e grandes são mais propensas de serem danificadas em comparação às sementes esféricas pequenas ou sementes chatas (SADER, CHALITA, TEIXEIRA, 1991; MARTINELLI-SENEME, ZANOTTO, NAKAGAWA, 2000; MENEZES et al., 2002; GEORGE et al., 2003) e também apresentam maior perda de vigor (AJAYI, RÜHL, GREEF, 2006). Maior incidência de injúrias mecânicas durante o beneficiamento também foi observada em sementes de milho super doce de tamanho grande e médio (retidas em peneiras com diâmetros de crivos de 8,3 mm e de 7,5 mm) quando comparadas às sementes pequenas (retidas em peneiras com diâmetro de crivo de 6,5 mm), sem, contudo, afetarem a germinação (GEORGE et al., 2003).

As injúrias mecânicas caracterizadas por aberturas no pericarpo podem se tornar em pontos de infecção e, também, em fonte de nutrientes para patógenos (STYER, CANTLIFFE, 1984; PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995). O aumento do nível de injúrias mecânicas em sementes de milho favoreceu o aumento da incidência de patógenos, principalmente dos fungos *Fusarium verticillioides* e *Cephalosporium* sp. (MARCHI et al., 2006). Além disso, o efeito da injúria é agravado quando localizada mais próxima do embrião (WORTMAN, RINKE, 1951; CARVALHO, NAKAGAWA, 2000; CICERO, SILVA, 2003), podendo provocar alterações fisiológicas qualitativas nas sementes, principalmente pela presença de *Aspergillus* sp. e *F. verticillioides* (CICERO, SILVA, 2003). Sementes de milho doce *shrunk-2* (*sh2*) inoculadas com *F. verticillioides* apresentaram redução significativa na germinação e na emergência de plântulas no teste de frio em comparação com aquelas sem inoculação (STYER, CANTLIFFE, 1984).

Dentre os principais fungos associados às sementes de milho doce listados, encontram-se o *F. verticillioides*, o *Cladosporium* spp., o *Penicilium* spp. (GUISCHEM et al., 2001; CAMARGO, 2003), o *Aspergillus* sp e o *Cephalosporium* sp. (CAMARGO, 2003). A alta susceptibilidade a patógenos de solo é comum a todos os genótipos de milho doce, pois o pericarpo fino e frequentemente trincado pode favorecer a rápida

colonização microbiana nas sementes (PARERA, CANTLIFFE, 1994), que associado à grande quantidade de açúcar do endosperma, pode acelerar ainda mais o processo. A semente de milho doce *sh2* apresenta espessura do pericarpo de 73 µm (TRACY, JUIK, 1989) contra 99 µm, em média, do milho comum (HELM, ZUBER, 1969). Também, a semente de milho comum tem em torno de 3% de açúcar e entre 60% e 70% de amido, enquanto que na semente de milho doce o teor de açúcar varia de 9 % a 14% e o de amido de 30% a 35% (SILVA, 1994).

A baixa qualidade das sementes de milho doce tem sido atribuída a uma série de fatores. Além da alta sensibilidade aos danos por embebição, da fragilidade do sistema de membranas após a secagem (DOUGLASS, JUVIK, SPLITTSTOESSER, 1993) e das características texturais do endosperma, essas sementes possuem baixa concentração de reservas, aumentando sua susceptibilidade à colonização por fungos patogênicos (STYER, CANTLIFFE, 1984; SILVA, 1994; GUISCEN, NAKAGAWA, ZUCARELI, 2001). A perda de açúcares do endosperma resulta na redução da quantidade de energia disponível para o embrião e também fornece substratos para o crescimento de patógenos sobre a semente ou ao seu redor (DOUGLASS, JUVIK, SPLITTSTOESSER, 1993). A ocorrência de injúrias mecânicas, associadas com esses fatores, poderá acelerar ainda mais a perda da qualidade dessas sementes.

Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial fisiológico e a sanidade de sete classes de sementes de milho doce expostas às injúrias mecânicas.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e métodos

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal (LPV) e de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia e Nematologia (LFN) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP. Foram avaliadas sete classes de sementes de milho doce *shrunk-2* (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences®, sem tratamento químico com fungicidas ou inseticidas,

provenientes do município de Jardinópolis, SP, classificadas em peneiras com crivos de diferentes tamanhos e formas (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1 – Descrição das classes de sementes, sigla, crivo e dimensões dos crivos para classificação das sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®

Classes de sementes	Sigla	Crivo	Dimensões
Esférica grande	EG	circular	22 (8,73 mm)
Esférica média 1	EM1	circular	20 (7,94 mm)
Esférica média 2	EM2	circular	18 (7,14 mm)
Esférica pequena	EP	circular	16 (6,35 mm)
Achatada grande	AG	oblongo	22 x $\frac{3}{4}$ (8,73 mm x 19,05 mm)
Achatada média 3	AM3	oblongo	20 x $\frac{3}{4}$ (7,94 mm x 19,05 mm)
Achatada pequena	AP	oblongo	16 x $\frac{3}{4}$ (6,35 mm x 19,05 mm)

Figura 1 – Imagem representativa das classes de sementes e sua localização na espiga

As injúrias mecânicas foram provocadas por meio do equipamento *BC Impact Simulator* – modelo 2000, Dow AgroSciences® (Figura 2). As sementes de uma amostra de 700 g, ao serem despejadas na moega de entrada, foram projetadas contra uma placa de aço inoxidável posicionada a 10 cm da saída de um jato de ar comprimido cuja pressão foi ajustada para 965 KPa por meio de um manômetro com um registro.

Posteriormente, as sementes foram depositadas em uma gaveta localizada na base do equipamento. Cada amostra foi despejada manualmente na moega de entrada com o auxílio de uma calha metálica visando à uniformidade do fluxo de entrada das sementes. Assim, foi possível estabelecer, de maneira controlada, diferentes níveis de injúrias mecânicas nas sementes.

Figura 2 – *BC Impact Simulator* – modelo 2000, Dow AgroSciences®

Para cada classe de semente foram estabelecidos cinco níveis de injúrias mecânicas, correspondendo a zero, um, três, cinco e sete impactos contra a placa metálica. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e os tratamentos (35) definidos a partir de um esquema fatorial (7 x 5) pela combinação entre classes de sementes e níveis de injúrias mecânicas.

Após o procedimento utilizado para provocar as injúrias mecânicas nas sementes, a amostra de cada tratamento foi dividida em duas subamostras, uma utilizada para a realização das avaliações imediatamente após os impactos e a outra acondicionada em sacos de papel Kraft e armazenada em ambiente com temperatura de 20°C e 50-60% de umidade relativa do ar durante cinco meses e, em seguida, submetida aos testes para avaliação da qualidade das sementes.

Inicialmente foi realizada a caracterização das sementes de cada classe por meio da determinação da massa de mil sementes. A determinação do teor de água das sementes foi realizada antes e após o armazenamento e após o teste de envelhecimento acelerado. Para determinação da massa de mil sementes, foram contadas oito repetições de 100 sementes de cada classe e pesadas em balança de precisão (0,01 g). O resultado final, expresso em gramas e com uma casa decimal, foi obtido multiplicando-se por 10 o valor médio das repetições, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 1992). Os valores foram corrigidos para o teor de água de 13% na base úmida. O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa, a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas (BRASIL, 1992), com duas amostras de 5 g de cada classe de semente. Os resultados foram expressos em percentual médio, tendo como base o peso úmido, sem submeter-se à análise estatística.

A ocorrência das injúrias mecânicas foi avaliada empregando-se quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram dispostas em copos plásticos e a estes adicionados solução de tintura de iodo a 4% em volume suficiente para cobrir as sementes e lavagem das sementes após cinco minutos de imersão. A identificação das sementes danificadas foi realizada com base na presença de sinais de coloração roxa, resultante da reação entre o iodo e o amido. Os resultados foram expressos em percentuais, segundo as recomendações de Marcos Filho, Cicero e Silva (1987).

Na avaliação da germinação e da primeira contagem de germinação foram utilizados os critérios prescritos nas RAS (BRASIL, 1992), exceto para o número de sementes avaliadas, que foram de 200, divididas em quatro amostras de 50, sendo cada amostra uma repetição. Foi utilizado como substrato o papel toalha umedecido com água numa proporção de massa de 2,5:1 (água: papel). Os rolos contendo as sementes foram levados ao germinador à temperatura de 25°C e as contagens foram realizadas após quatro (primeira contagem) e sete dias. O resultado final da germinação foi obtido computando-se as plântulas normais observadas na primeira e na última contagem, com valores expressos em percentuais.

O teste de condutividade elétrica foi realizado pelo sistema massal, segundo metodologia proposta pelo comitê de vigor da AOSA (1983). Quatro repetições de 50 sementes sem escolha, previamente pesadas em balança de precisão (0,001 g), foram colocadas em copos plásticos com capacidade de 200 mL, contendo 75 mL de água deionizada. Os copos foram mantidos em germinador durante 24 horas à temperatura de 25°C. Após esse período, a leitura da condutividade elétrica da solução foi realizada utilizando o aparelho da marca DIGIMED®, modelo DM-31. Os valores das leituras de cada repetição foram divididos pelo peso inicial, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de semente.

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado segundo o método proposto por McDonald e Phaneendranath (1978) descrito por Marcos Filho (1994), colocando-se uma camada única de sementes sobre uma tela de inox ajustada dentro de uma caixa de plástico transparente de dimensão 11 cm x 11 cm x 3,5 cm, contendo no fundo 40 mL de água. Após a colocação da tampa, as caixas foram mantidas no interior de uma câmara tipo BOD durante o período de 72 horas a 41°C. Ao término desse período foram semeadas quatro repetições de 50 sementes segundo a metodologia descrita para o teste de germinação. A avaliação foi realizada aos quatro dias após a semeadura com os resultados expressos em percentuais de plântulas normais.

O teste de frio foi realizado pelo método do rolo de papel com terra. Quatro repetições de 50 sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel toalha previamente umedecidas com água numa proporção de massa de 2,7:1 (água: papel) e cobertas com uma fina camada de terra proveniente de área recentemente cultivada com milho e com mais uma folha de papel toalha. Após a semeadura os rolos foram colocados em caixas plásticas, vedadas, e incubadas em câmara fria a 10°C por sete dias. Após, os rolos foram retirados das caixas e transferidos para germinador a 25°C onde permaneceram por 5 dias. O resultado foi expresso em percentuais de plântulas normais.

Para avaliação da sanidade das sementes foi utilizado o método de incubação em papel de filtro em placas de Petri com congelamento. Após 24 horas de incubação à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e sob alternância de 12/12 horas de luz fluorescente branca e escuro, as sementes foram colocadas em ambiente com temperatura de -18°C durante

24 horas, buscando paralisar o processo germinativo. Após esse período, as placas contendo as sementes foram retornadas às condições de incubação já referidas, por mais cinco dias. Após realizou-se a avaliação e identificação dos patógenos sob microscópio estereoscópico, avaliando-se individualmente as sementes. Foram avaliadas 30 sementes por tratamento, apenas após o período de armazenamento e os resultados expressos em percentuais de incidência de patógenos nas sementes.

Os dados de germinação e primeira contagem de germinação e do testes de avaliação das injúrias mecânicas, de envelhecimento acelerado, de condutividade elétrica, de frio e de sanidade foram submetidos à análise da variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

2.2.2 Resultados e discussão

A massa de mil sementes e os resultados do teor de água das sementes antes e após o teste de envelhecimento acelerado estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. A massa de mil sementes variou de 132,7 a 210,9 g entre as classes de sementes, sendo o maior valor obtido para a classe EG e o menor para a classe AP.

Quando as sementes foram expostas às injúrias mecânicas, o teor de água era de aproximadamente 11% (b.u.). Este teor é considerado favorável à ocorrência de injúrias mecânicas em sementes, principalmente das injúrias por quebramento (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000). Ao final do período de armazenamento, houve queda do teor de água para próximo de 9%.

Tabela 2 – Massa de mil sementes (M1000S), teor de água inicial (TAI) e teor de água após o teste de envelhecimento acelerado (TA-EA) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	M1000S (g)	TAI (%)	TA-EA (%)				
			Número de Impactos				
			0	1	3	5	7
EG	210,9	11,1	28,3	26,9	25,2	27,1	27,9
EM1	189,1	10,9	25,5	24,9	22,7	25,6	26,6
EM2	166,7	10,6	29,0	26,9	27,8	29,5	28,1
EP	142,2	10,8	27,4	28,7	28,3	28,7	27,1
AG	178,5	10,9	29,5	26,7	27,4	29,4	27,9
AM3	154,2	10,7	28,5	28,1	27,4	27,2	26,2
AP	132,7	10,8	28,5	29,2	26,8	29,1	27,8

Tabela 3 – Teor de água inicial (TAI) e teor de água após o teste de envelhecimento acelerado (TA-EA) de sete classes de sementes (CS) de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroScience® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses

Classes de sementes	Número de Impactos									
	0		1		3		5		7	
	TAI	TA-EA	TAI	TA-EA	TAI	TA-EA	TAI	TA-EA	TAI	TA-EA
	.....%.....									
EG	8,9	27,9	8,8	29,4	8,5	30,5	8,3	29,1	8,7	28,4
EM1	9,0	30,3	9,2	30,2	9,1	30,4	9,3	28,6	9,1	28,6
EM2	8,4	29,7	8,3	29,6	8,9	29,1	8,5	28,1	8,2	31,9
EP	8,3	29,9	8,7	29,2	8,7	32,9	8,6	32,8	8,5	32,0
AG	9,1	29,5	8,8	29,5	8,9	29,0	8,8	31,0	9,2	33,2
AM3	8,9	31,1	9,1	30,6	9,1	29,7	8,9	31,5	9,4	31,9
AP	9,1	31,4	9,0	32,1	9,1	33,2	8,6	30,8	9,1	30,5

O percentual de sementes com injúrias no pericarpo aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) em função dos impactos (Tabela 4) mesmo com 12,5% a 27,5% das sementes já apresentando injúrias no pericarpo antes de serem submetidas aos tratamentos. Normalmente o pericarpo da semente de milho doce mostra-se trincado (PARERA, CANTLIFFE, 1994) devido à facilidade de ocorrência de fissuras durante o processo de secagem e debulha, já que é pouco espesso (TRACY, JUIK, 1989) em relação ao

pericarpo da semente de milho comum (HELM, ZUBER, 1969). Também, a ocorrência dessas injúrias tem sido associada à formação de espaços vazios entre a camada de aleurona e o pericarpo da semente durante o processo de secagem (DOUGLASS, JUVIK, SPLITTSTOESSER, 1993). Apesar disso, o acréscimo do percentual médio de sementes com injúrias mecânicas foi de 8,6%, 17,1%, 25,7% e 34,4% para os tratamentos com um, três, cinco e sete impactos, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 – Percentuais de sementes com injúrias no pericarpo de sete classes sementes de milho doce (sh2) 'SWB 551' Dow AgroSciences®, avaliados pelo teste de tintura de iodo, após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	27,5bA ¹	39,0bAB	47,0bB	61,5cC	69,5bC
EM1	24,0abA	27,0abA	34,5abA	51,5bcB	53,0aB
EM2	22,0abA	31,0abAB	37,5abB	39,5abB	52,0aC
EP	24,5abA	30,5abAB	38,0abBC	43,5abC	46,5aC
AG	12,5aA	22,0aAB	31,5aB	45,0abC	58,0abD
AM3	13,5aA	27,0abB	36,0abBC	40,5abCD	51,5aD
AP	14,0aA	21,5aAB	33,0aBC	36,5aCD	48,0aD
CV = 16,1%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Em média, o maior percentual de sementes com injúrias ocorreu na classe EG (48,9%) e o menor nas sementes da classe AP (30,6%), concordando com os resultados de George et al. (2003) que observaram maiores percentuais de injúrias mecânicas em sementes grandes (39,6%) e médias (35,1%) de milho super doce em comparação com as sementes pequenas (30,9%). Também, maiores percentuais de injúrias mecânicas em sementes esféricas e de maior tamanho em relação às pequenas já haviam sido observadas em sementes de milho comum (MARTINELLI-SENEME, ZANOTTO, NAKAGAWA, 2000; MENEZES et al., 2002). No geral, ocorreram maiores percentuais de sementes esféricas com injúrias em comparação às sementes achatadas. Entretanto, essas diferenças não tiveram relação com a germinação (Tabelas 5 e 6).

Embora não tenha sido constatado efeito das injúrias sobre a germinação antes do armazenamento (Tabela 5), observa-se que, na maioria das vezes, os percentuais abaixo dos padrões de 75% para comercialização (BRASIL, 2005) coincidiram com os tratamentos com níveis mais altos de injúrias mecânicas. Porém, após o armazenamento isso não foi observado e a perda da viabilidade das sementes foi evidenciada em todos os tratamentos. No geral, a germinação média após o armazenamento foi de 71%, o que representou redução de 6% em relação à avaliação inicial.

Tabela 5 – Resultados de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	78aA ¹	75aA	72bA	68aA	73aA
EM1	82aA	82aA	73abA	80aA	73aA
EM2	75aA	70aA	81abA	70aA	76aA
EP	80aA	75aA	78abA	71aA	74aA
AG	85aA	80aAB	87aA	78aAB	71aB
AM3	83aA	82aA	84abA	76aA	82aA
AP	85aA	80aA	73abA	81aA	81aA

CV = 8,9%

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

A baixa relação entre os níveis de injúrias mecânicas e os danos à germinação possivelmente seja devido à baixa severidade das injúrias, que embora tenham sido identificadas no pericarpo de grande parte das sementes, podem não ter atingido regiões vitais da semente, como eixo embrionário. O escutelo é uma estrutura que proporciona proteção ao eixo embrionário da semente de milho; além desta estrutura existem outras como o tecido endospermático, a camada de aleurona e o pericarpo. No caso da semente de milho doce, além da proteção proporcionada por estas estruturas, a morfologia irregular caracterizada pelo enrugamento do endosperma durante a secagem, pode ter minimizado a probabilidade de ocorrência de injúrias no eixo embrionário.

Tabela 6 – Resultados de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	71aAB ¹	64bB	60aB	84aA	81aA
EM1	64aA	65abA	64aA	65bA	66aA
EM2	65aA	70abA	71aA	66bA	69aA
EP	73aA	72abA	68aA	70abA	69aA
AG	72aA	68abA	70aA	78abA	71aA
AM3	78aA	83aA	69aA	75abA	84aA
AP	75aA	74abA	76aA	72abA	76aA
CV = 11,6%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Segundo Carvalho e Nakagawa (2000) quanto mais irregular a forma da semente, menor é a sensibilidade às injúrias mecânicas, porque formatos irregulares determinam diferentes probabilidades de impactos sobre os diversos pontos da semente. Assim, em milho doce, mesmo que ocorra aumento do percentual de sementes com injúrias no pericarpo em função dos impactos, o eixo embrionário pode permanecer intacto. Informações da literatura enfatizam que as injúrias mecânicas são prejudiciais à qualidade da semente quando ocorrem próximas do eixo embrionário (WORTMAN, RINKE, 1951; CARVALHO, NAKAGAWA, 2000; CICERO, SILVA, 2003) onde também há aumento dos riscos do desenvolvimento de patógenos (TUIE et al., 1985). Em sementes de milho, Cicero e Silva (2003) observaram que as injúrias provocadas no ápice do escutelo e na região da camada negra foram mais prejudiciais ao potencial fisiológico e à sanidade das sementes do que aquelas provocadas na calota endospermática.

Os resultados obtidos nesta pesquisa corroboram com os observados por George et al. (2003) que também não encontraram relação entre a ocorrência de injúrias mecânicas e a perda da viabilidade da semente de milho doce, sendo que as sementes grandes e médias que tiveram a mais alta germinação também apresentaram os mais altos percentuais de injúrias mecânicas durante o beneficiamento. De maneira similar, em sementes de milho, também não foram observados efeitos significativos dos

níveis de injúrias (0, 3, 5 ou 10 vezes que as sementes atingiram uma placa de aço em queda livre de uma altura de 10 m) sobre a germinação de sementes da região apical, mediana e basal da espiga mesmo com o aumento do percentual de sementes injuriadas em função dos impactos (PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995). Entre as classes de sementes avaliadas, o efeito das injúrias mecânicas sobre a perda da germinação antes do armazenamento foi observado apenas na classe AG com redução de 85% no tratamento não submetido às injúrias, para 71% no tratamento com sete impactos (Tabela 5), mas não prevaleceu após o armazenamento (Tabela 6).

Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) na germinação entre as classes de sementes foram observadas dentro dos tratamentos com um, três e cinco impactos (Tabelas 5 e 6), porém, no geral, os maiores resultados ocorreram para as classes AG, AM3 e AP, que ocupavam a posição central na espiga (Figura 1). Esses resultados sugerem que essas sementes, que estão localizadas na região mediana da espiga, podem apresentar maior potencial fisiológico em relação àquelas da porção basal ou apical, conforme foi constatado em sementes de milho (PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995). Isto pode estar associado ao maior acúmulo de reservas durante a maturação nas sementes da região basal e central da espiga em relação às sementes do ápice. Segundo Shieh e McDonald (1982), a distribuição dos fotossintetizados durante o desenvolvimento da espiga ocorre de acordo com a formação das sementes; aquelas formadas na porção basal e central são as primeiras a receberem os produtos da fotossíntese, seguidas pelas localizadas no ápice. Outro fator que pode estar relacionado com as diferenças de qualidade das sementes é a atuação de fatores ambientais adversos, como a contaminação por fungos das sementes localizadas no ápice da espiga ou a deterioração das sementes da porção basal da espiga, devido ao acúmulo de água nesta região durante a maturação ainda no campo. No primeiro caso, por exemplo, trabalhando com sementes de milho, Mondo e Cicero (2005) constataram que as sementes localizadas no ápice da espiga apresentaram potencial fisiológico inferior àquelas localizadas na base e no meio da espiga. A presença de manchas escuras na região do eixo embrionário em grande parte das sementes do ápice da espiga, identificadas por meio do teste de raios X, foram relacionadas com a incidência de fungos.

O efeito das injúrias mecânicas sobre o vigor das sementes também foi avaliado nesta pesquisa. Em três das sete classes de sementes avaliadas houve influência dos tratamentos nos resultados de primeira contagem de germinação (Tabelas 7 e 8). Entretanto, as diferenças sempre quando ocorreram não evidenciaram os tratamentos com maiores níveis de injúrias como os piores. Para a classe AP, por exemplo, (Tabela 8) houve aumento de 47% para 60% da germinação em função dos impactos. Este fato pode estar associado à embebição mais rápida das sementes injuriadas, devido à rápida distribuição da água nos espaços entre o pericarpo e a camada de aleurona proporcionando, conseqüentemente, maior rapidez no início da metabolização das reservas rumo à germinação em relação aos tratamentos com menor percentual de sementes com injúrias mecânicas no pericarpo.

Tabela 7 – Resultados de primeira contagem de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	68aA ¹	60abA	65bA	59aA	65aA
EM1	69aA	67abA	59bA	65aA	64aA
EM2	64aAB	56bB	70abA	62aAB	66aAB
EP	70aA	67abA	65bA	59aA	65aA
AG	74aAB	65abB	78aA	70aAB	73aAB
AM3	72aA	69aA	70abA	69aA	71aA
AP	71aA	68aA	61bA	65aA	68aA
CV = 8,7%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05)

O aumento do percentual de sementes com injúrias no pericarpo (Tabela 4) se relacionou com o aumento do percentual de plântulas normais. Na avaliação inicial (Tabela 7), as diferenças entre classes de sementes ocorreram até quando as sementes foram submetidas a três impactos, porém após o armazenamento, as diferenças também ocorreram quando as sementes foram submetidas a cinco e sete impactos, com destaque para as sementes achatadas, classes AM3 e AP, que tiveram

maior germinação (Tabela 8). Esses resultados, entretanto, não foram confirmados pelo teste de condutividade elétrica.

Tabela 8 – Resultados de primeira contagem de germinação (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses

Classe de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	40bA ¹	37bcA	35cA	41abcA	36dA
EM1	40bA	33cA	36bcA	40bcA	44cdA
EM2	35bA	38bcA	38bcA	36cA	44cdA
EP	46abA	45abcA	38bcA	41abcA	44cdA
AG	44abA	41bcA	48abA	52abA	51bcA
AM3	53aA	56aA	54aA	53aA	64aA
AP	47abB	48abB	54aAB	53aAB	60abA
CV = 13,6%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

As leituras de condutividade elétrica realizadas antes do armazenamento aumentaram significativamente ($p \leq 0,05$) em função dos impactos para todas as classes de sementes, com exceção da classe AP (Tabela 9). Entretanto, após o armazenamento, o efeito dos tratamentos foi observado apenas para as classes EP e AM3 (Tabela 10). Os resultados desse teste, principalmente antes do armazenamento, tiveram alta relação com os resultados do teste de avaliação da ocorrência de injúrias mecânicas (Tabela 4). O aumento da condutividade elétrica da solução de embebição em função dos impactos coincidiu com o aumento do percentual de sementes com injúrias no pericarpo. De acordo com Helter e Burris (1989), a integridade do pericarpo pode afetar a quantidade de exudados liberados durante o período em que as sementes ficam emersas na água e, conseqüentemente, a condutividade elétrica da solução. Em sementes de milho, Fessel et al. (2003) também constataram aumento da lixiviação de metabólitos em função do aumento do percentual de sementes com injúrias mecânicas. Com relação às classes de sementes, as diferenças foram mais evidentes após o armazenamento, porém os piores resultados sempre ocorreram para a classe AP, com valores médios de $56,5 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, antes do armazenamento (Tabela

9) e de $57,8 \mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$, após o armazenamento (Tabela 10). Altas leituras de condutividade elétrica também foram constatadas para as sementes da classe EP.

Tabela 9 – Resultados do teste de condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	37,5aA ¹	42,0aAB	44,0aAB	44,8aAB	48,7aB
EM1	38,4aA	41,4aA	43,9aAB	43,2aAB	50,4aB
EM2	37,9aA	41,5aAB	48,4abBC	45,8aAB	53,9abC
EP	51,9bA	51,9bA	55,3bAB	63,4bC	60,0bBC
AG	38,6aA	46,4abAB	45,2aAB	48,8aBC	55,5abC
AM3	39,0aA	45,1abABC	43,2aAB	49,1aBC	52,1abC
AP	48,0bA	48,8abA	50,1abA	49,3aA	55,5abA
CV = 8,6%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Houve baixa influência dos impactos sobre o potencial de armazenamento das sementes. O efeito dos impactos avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado ocorreu apenas para as sementes das classes EG e AM logo após terem sido expostas às injúrias mecânicas (Tabela 11). Não houve efeito dos tratamentos ($p > 0,05$) sobre os resultados desse teste após o período de cinco meses de armazenamento (Tabela 12). Ressalta-se que, mesmo que a variação do teor de água das sementes após terem sido retiradas da câmara de envelhecimento não tenha sido muito estreita, não houve interferência nos resultados. A amplitude de variação dentro de cada classe de semente nas avaliações realizadas antes e após o armazenamento não foi maior que 3,9% e 4,2%, respectivamente (Tabelas 2 e 3). Segundo Marcos Filho, Cicero e Silva (1987), durante a realização dos testes, o conhecimento do teor de água das sementes é importante, pois a sua uniformização torna-se imprescindível para a confiabilidade dos resultados.

Tabela 10 – Resultados do teste de condutividade elétrica de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	37,9aA ¹	41,3aA	39,3aA	43,1abA	46,3aA
EM1	38,8aA	38,4aA	42,6abA	38,9aA	44,1aA
EM2	37,1aA	43,1aAB	49,4bB	41,3abAB	46,0aAB
EP	52,6bA	53,9bAB	61,7cAB	58,5cAB	62,3bB
AG	37,5aA	40,8aA	40,1abA	43,5abA	46,3aA
AM3	43,3abA	45,3abAB	45,1abAB	45,3abAB	53,8abB
AP	49,6bA	46,3abA	47,2abA	49,2bcA	52,7abA
CV = 10,3%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Tabela 11 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	54aAB ¹	54abAB	44bB	61abA	57aAB
EM1	58aA	45bA	51abA	51abA	55aA
EM2	69aA	61abA	65aA	64aA	59aA
EP	60aA	49bA	46bA	45bA	45aA
AG	62aA	69aA	57abA	64aA	62aA
AM3	63aA	48bAB	49abAB	47abB	55aAB
AP	65aA	56abA	54abA	61abA	58aA
CV = 14,5%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Os resultados de envelhecimento acelerado obtidos nesta pesquisa discordam dos observados por Ajayi, Rühl e Greef (2006) que trabalharam com sementes de milho e verificaram que no final do beneficiamento houve redução de 30% no percentual de plântulas normais do teste de envelhecimento acelerado em relação aos 90% relativos às sementes não danificadas. Também vem de encontro aos resultados constatados por Peterson, Perdomo e Burris (1995), porém no teste de deterioração controlada. Os

autores verificaram que sementes não submetidas a impactos tiveram percentual de plântulas normais próximo de 90% e quando foram submetidas a dez impactos consecutivos contra uma placa de aço a redução do vigor foi para próximo de 60%.

Tabela 12 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	39cA ¹	41dA	41cA	43cA	44cA
EM1	52bA	51bcdA	48bcA	50bcA	49bcA
EM2	54bA	53bcdA	52abcA	51bcA	57abA
EP	47bcA	45cdA	42cA	52bcA	47bcA
AG	56bA	56bcA	58abA	60abA	62aA
AM3	58bA	59abA	62aA	58abA	59abA
AP	72aA	70aA	63aA	68aA	62aA
CV = 11,1%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

As diferenças entre as classes de sementes no teste de envelhecimento acelerado, antes do armazenamento (Tabela 11), ocorreram apenas dentro dos tratamentos com um, três e cinco impactos, sem, contudo, confirmar uma determinada classe como de maior vigor. Por outro lado, após o armazenamento (Tabela 12), as sementes achatadas, independentemente do tamanho, geralmente apresentaram maior vigor. Os piores resultados foram observados para as sementes das classes EG, EM1 e EP. Antes do armazenamento, o mais baixo vigor (44%) foi observado dentro da classe EG, cujas sementes haviam sido submetidas a três impactos, de maneira similar ao observado para as sementes da classe EM1 submetidas a um impacto, 45%. Após o armazenamento, a classe EG apresentou os mais baixos resultados, inclusive para o tratamento cujas sementes não foram expostas as injúrias mecânicas. Também, após o armazenamento, baixos percentuais de plântulas normais foram observados dentro da classe EP, com destaque para as sementes submetidas a três impactos, 42%. Esses resultados sugerem que o formato da semente pode estar associado com a perda do potencial fisiológico. Pesquisas tem demonstrado que as diferenças de vigor entre

sementes de formato esférico e achatado são mais expressivas do que entre sementes de mesma forma, mas com diferentes tamanhos (SHIED, McDONALD, 1982; MORENO-MARTINEZ et al., 1998; AJAYI, RÜHL, GREEF, 2006). Há ponderações de que essas diferenças de vigor entre sementes com diferentes formatos sejam devido à ordem com que os óvulos são fertilizados (SHIED, McDONALD, 1982). Entretanto, a explicação dessas diferenças podem também estar associadas com a posição que as sementes ocupam na espiga, e não simplesmente com a ordem com que ocorre a fertilização dos óvulos. Pesquisa desenvolvida por Mondo e Cicero (2005), utilizando raios X, evidenciou que as sementes de formato esférico e que estavam localizadas no ápice da espiga apresentaram baixo potencial fisiológico devido à contaminação por fungos. Também, o menor potencial fisiológico das sementes da base da espiga foi relacionado com o aparecimento de manchas escuras na região do eixo embrionário, posteriormente associadas com a incidência de fungos.

Antes do armazenamento, o efeito negativo dos impactos foi observado no teste de frio apenas para as classes EM2, AG e AM3 (Tabela 13). Para as classes EM2 e AM3, a redução foi de 35,7% e 51,2%, respectivamente. Para a classe AG a perda de vigor foi de 38,1% e ocorreu a partir de cinco impactos. Na avaliação após o armazenamento, o vigor de todas as classes de sementes foi afetado negativamente em função dos impactos (Tabela 14), com exceção para as sementes EP, o que provavelmente tenha ocorrido devido ao baixo vigor inicial dessas sementes, inviabilizando a expressão dos efeitos dos tratamentos. Após o armazenamento, o efeito dos impactos, calculado pela redução do vigor das sementes do tratamento com sete impactos em relação ao tratamento com zero impacto, foi maior nas sementes grandes (EG e AG), com percentuais de 44,1% e 57,1%, respectivamente (Tabela 14), seguidas pelas sementes das classes AM3 (39,3%), EM2 (38,9%) e AP (36,4%). O menor valor (25,8%) ocorreu para a classe EM1. A partir dos dados médios das classes de sementes, os menores percentuais de plântulas normais no teste de frio após o armazenamento (Tabela 14) ocorreram para os tratamentos com cinco e sete impactos, correspondendo, respectivamente, à queda de 43% e 57% do vigor em relação ao tratamento com zero impacto.

Tabela 13 – Resultados do teste de frio (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos)

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	21cA ¹	15bA	14cA	8bA	8aA
EM1	27bcA	23bA	24abcA	21abA	17aA
EM2	28abcA	16bAB	22bcAB	16bAB	10aB
EP	15cA	18bA	11cA	15bA	7aA
AG	39abA	28bA	38aA	11bB	11aB
AM3	41aAB	45aA	34abABC	30aBC	21aC
AP	28abcA	26bA	22bcA	16abA	17aA
CV = 32,2%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Tabela 14 – Resultados do teste de frio (%) de sete classes de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) e armazenadas durante cinco meses

Classes de sementes	Número de Impactos				
	0	1	3	5	7
EG	34bA ¹	34abA	23bB	17bB	15bB
EM1	31bcA	25bcAB	15bcBC	14bC	8bC
EM2	18deA	19cA	10cAB	13bAB	7bB
EP	10eA	7dA	8cA	10bA	5bA
AG	49aA	40aAB	40aAB	33aBC	28aC
AM3	28bcA	22cAB	17bcBC	11bC	11bC
AP	22cdA	20cA	16bcAB	12bAB	8bB
CV = 25,7%					

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna e mesma letra maiúscula dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Entre os testes de vigor utilizados, o teste de frio foi o mais sensível para identificar perdas de vigor associadas às injúrias mecânicas. Outros pesquisadores também haviam observado eficiência desse teste na avaliação de injúrias mecânicas em sementes de milho doce (NASCIMENTO, PESSOA, BOITEUX, 1994) e de milho comum sem inoculação de fungos (WORTMAN, RINKE, 1951) e com inoculação de fungos em diferentes partes danificadas da semente (CICERO, SILVA, 2003). Durante a

avaliação do teste de frio foi observado o desenvolvimento de micélio de fungos sobre as sementes, principalmente nos tratamentos correspondentes aos maiores níveis de injúrias mecânicas.

Cabe ressaltar que as sementes não estavam tratadas com fungicidas e que devido ao longo período de exposição das sementes à baixa temperatura e alta umidade, o aumento do percentual de sementes com injúrias no pericarpo em função dos impactos (Tabela 4) pode ter favorecido a rápida colonização dos tecidos internos da semente pelos fungos de solo, com os quais, segundo Parera e Cantliffe (1994), as sementes de milho doce possuem alta susceptibilidade. Styer e Cantliffe (1984), por meio de micrografia eletrônica, observaram a penetração de hifas de *Fusarium verticillioides* através de pequenas trincas no pericarpo da semente de milho doce (*sh2*) com posterior crescimento na região entre o pericarpo e a camada de aleurona. Também, com o abaixamento da temperatura durante a germinação os mecanismos de reparo das membranas celulares se tornam mais lentos, resultando no aumento da liberação de solutos e favorecendo a colonização da semente por fungos (BURRIS, NAVRATIL, 1979; DOUGLASS, JUVIK, SPLITTSTOESSER, 1993).

Após o armazenamento, para algumas classes de sementes, a redução do percentual de plântulas normais no teste de frio ocorreu a partir de determinados níveis de injúrias (Tabela 14). As sementes das classes EG, EM1 e AM3 submetidas a três ou mais impactos tiveram redução significativa do vigor ($p \leq 0,05$) em relação às sementes não injuriadas, enquanto que para as sementes da classe AG essa redução ocorreu a partir de cinco impactos. Já, para as classes EM2 e AP o vigor foi reduzido apenas quando as sementes foram submetidas a sete impactos. Possivelmente essas variações entre classes de sementes estejam relacionadas com o percentual de sementes com injúrias mecânicas, favorecendo a liberação de solutos e o desenvolvimento de fungos nas sementes.

A terra no teste de frio é considerada um componente crítico devido à presença de patógenos prejudiciais à germinação (WOLTZ et al., 1998). Observa-se que as sementes da classe EG e EM1 que apresentaram os maiores percentuais de injúrias no pericarpo (Tabela 4) também tiveram perda de vigor a partir de tratamentos com menores números de impactos (Tabela 14). Observa-se também que as reduções

significativas dos percentuais de plântulas normais no teste de frio em relação ao tratamento com zero impacto ocorreram quando mais de 47%, 34,5%, 52%, 45%, 36% e 48% das sementes das classes EG, EM1, EM2, AG, AM3 e AP apresentaram injúrias no pericarpo, respectivamente. Esses resultados sugerem a existência de um limite mínimo de sementes com injúrias no pericarpo sem causar perda significativa do vigor.

Antes do armazenamento, diferenças de vigor ($p \leq 0,05$) entre as classes de sementes identificadas pelo teste de frio ocorreram até o nível de cinco impactos (Tabela 14). No geral, os maiores percentuais de plântulas normais neste teste foram observados nas classes AG e AM3 e as classes EG e EP tiveram os piores resultados. Após o armazenamento, as sementes da classe AG apresentaram vigor mais alto dentro de todos os níveis de injúrias mecânicas e os mais baixos percentuais de plântulas normais ocorreram nas classes EM2 e EP. Foi constatada diminuição das diferenças entre classes de sementes a partir do tratamento com cinco impactos, sendo o vigor das sementes da classe AG significativamente maior ($p \leq 0,05$) em relação às demais classes de sementes.

Não houve efeitos da interação entre níveis de injúrias mecânicas e classes de sementes no teste de sanidade. Diferenças ($p \leq 0,05$) foram observadas apenas entre as classes de sementes para os percentuais de incidência de fungos como o *Cephalosporium* sp., o *Penicillium* spp. e o *Aspergillus* spp. (Tabela 15). Para o *Fusarium verticillioides* foram constatadas médias de incidência de até 100%, enquanto que, para outros fungos, como o *Cephalosporium* sp. e o *Aspergillus* spp. a incidência foi menor, não excedendo 21%. Para o *Cephalosporium* sp. a maior incidência (20,8%) foi observada nas sementes achatadas e de tamanho médio (classe AM3) comparativamente àquelas de formato esférico e de tamanhos grande e médio (classes EG, EM1 e EM2) cujos percentuais estiveram entre 7,5 e 8,7%. Ainda, para as sementes esféricas houve tendência de aumento da incidência desse fungo com a diminuição do tamanho das sementes. Provavelmente este fato esteja associado à maior facilidade de contaminação pelo fungo ainda no campo em sementes localizadas na porção apical da espiga em comparação às de maior tamanho, da base da espiga. Mondo e Cicero (2005) relacionaram a baixa germinação das sementes do ápice da espiga que apresentavam manchas escuras na região do eixo embrionário (detectadas

pelos raios X) não observadas nas sementes da região mediana e basal, com a incidência dos fungos *F. verticillioides* e *Penicillium* spp., confirmada no teste de sanidade.

Tabela 15 – Percentuais médios de incidência de fungos em sete classes de sementes de milho doce (sh2) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, após serem submetidas as injúrias mecânicas e armazenadas durante cinco meses

Classes de sementes	Incidência de fungos ¹ (%)				Médias
	FUS	CEP	PEN	ASP	
EG	99,7a ²	7,5a	60,5ab	10,7ab	44,6
EM1	99,8a	8,0ab	62,2b	13,3b	45,8
EM2	100,0a	8,7ab	49,2ab	9,5ab	41,9
EP	99,8a	18,8bc	44,0a	5,5a	42,0
AG	98,3a	13,8abc	62,5b	9,5ab	46,0
AM3	99,7a	20,8c	50,0ab	5,7a	44,1
AP	99,2a	15,8abc	51,0ab	4,5a	42,6
Médias	99,5	13,3	54,2	8,4	43,9
CV (%)	2,3	89,0	34,5	86,8	-

¹Incidência de fungos: FUS= *Fusarium verticillioides*; CEP= *Cephalosporium* sp.; PEN= *Penicillium* spp.; ASP= *Aspergillus* spp.

²Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05)

Para o *Penicillium* spp., os maiores percentuais ocorreram nas sementes das classes EM1 e AG quando comparadas às sementes da classe EP. O mesmo ocorreu para o *Aspergillus* sp., com menor percentual nas sementes das classes EP, AM3 e AP comparadas às da classe EM1. No geral, os percentuais de incidência de fungos nas sementes corroboram com os encontrados por Camargo (2003) que observou maior incidência de *Fusarium* sp., de *Penicillium* spp. e de *Aspergillus* spp. em sementes de milho doce, exceção apenas para a incidência do *Cephalosporium* sp. com incidência abaixo de 2%. Em sementes de milho a incidência do *Cephalosporium* sp. foi de até 90% (MARCHI et al., 2006). Essas variações podem ser devido às condições ambientais em que cada lote de semente foi produzido. De maneira similar ao constatado nesta pesquisa, a maior incidência de *F. verticillioides* (91% a 97%) em relação aos fungos de armazenamento *Aspergillus* spp. (máximo de 4%) também foram verificadas em sementes de milho (MARCHI et al., 2006). As variações encontradas na

literatura com relação aos fungos de armazenamento também podem estar relacionadas com o ambiente de produção. Segundo Pinto (1996), os fungos de armazenamento podem infestar as sementes na pré-colheita, principalmente sob condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento, bem como podem tolerar baixo teor de água das sementes e sobreviver por períodos prolongados de armazenamento.

Embora tenham sido observados efeitos dos tratamentos sobre o percentual de sementes com injúrias mecânicas no pericarpo, com intensidade variável entre as classes de sementes (Tabela 4), não houve relação com a perda de viabilidade e com a incidência de patógenos nas sementes. Porém, o vigor, avaliado pelo teste de frio, apresentou redução significativa após o armazenamento (Tabela 14). As injúrias provocadas no pericarpo das sementes podem ter favorecido a contaminação das sementes pelos possíveis patógenos de solo presentes na terra que foi utilizado no teste. Talvez essa seja a razão de não ter ocorrido aumento da incidência de patógenos nas sementes em função dos níveis de injúrias, mas ter diminuído o percentual de plântulas normais no teste de frio. Provavelmente, a ausência de diferenças entre níveis de injúrias no teste de sanidade seja devido às condições do ambiente de armazenamento (20°C, 50-60% de UR do ar) impróprias para o desenvolvimento de fungos nas sementes.

Com base nos resultados de primeira contagem de germinação e dos testes de condutividade elétrica e de envelhecimento acelerado, não foi possível identificar, de maneira consistente, perdas do potencial fisiológico das sementes em função dos impactos.

2.3 Conclusões

O aumento do percentual de sementes de milho doce com injúrias mecânicas no pericarpo está diretamente relacionado com o número de impactos que as sementes são submetidas e com a perda do vigor, avaliada pelo teste de frio; porém, não há efeito prejudicial sobre a germinação e a sanidade das sementes.

Referências

AJAYI, S.A.; RÜHL, G.; GREEF, J.M. Impact of mechanical damage to hybrid maize seed from harvesting and conditioning. **Seed Technology**, Lansing, v. 28, n. 1, p. 7-21, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Springfield: AOSA, 1983. 88 p. (Contribution, 32).

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

BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; OLIVEIRA, A.C. Efeito da debulha mecânica na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 68-70, 1994.

BRASIL. Instrução Normativa n. 25, de 16 de dezembro de 2005. Dispõe sobre o estabelecimento de normas específicas e os padrões de identidade e qualidade para produção e comercialização de sementes de algodão, arroz, aveia, azevém, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo, trevo vermelho, trigo, trigo duro, triticale e feijão caupi. **Diário Oficial**, Brasília, 20 dez. 2005. Seção I, p. 18.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

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

CAMARGO, R. **Armazenamento de sementes de milho doce**. 2003. 81 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CICERO, C.M.; SILVA, W.R. Danos mecânicos associados a patógenos e desempenho de sementes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 305-314, 2003.

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

FESSEL, S.A.; SADER, R.; PAULA, R.C. de.; GALLI, J.A. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 70-76, 2003.

GEORGE, D.L.; GUPTA, M.L.; TAY, D.; PARWATA, I.G.M.A. Influence of planting date, method of handling and seed size on supersweet sweet corn seed quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 31, n. 2, p. 351-366, 2003.

GUISCHEM, J.M.; NAKAGAWA, J.; ZUCARELI, C. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce BR 400 (bt) em função do teor de água na colheita e da temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 220-228, 2001.

GUISCHEM, J.M.; ZUCARELI, C.; NAKAGAWA, J.; ZANOTTO, M.D. Fungos associados a sementes de milho doce dos cultivares BR 400 (bt), BR 401 (su) e BR 402 (SU). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 247, 2001.

HELM, J.L.; ZUBER, M.S. Pericarp thickness of dent corn inbred lines. **Crop Science**, Madison, v. 9, n. 6, p. 803-804, 1969.

MARCHI, J.L.; MENTEN, J.O.M.; MORAES, M.H.D.; CICERO, S.M. Relação entre danos mecânicos, tratamento fungicida e incidência de patógenos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 3, p. 314-321, 2006.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-149.

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

MARTINELLI-SENEME, A.; ZANOTTO, M.D.; NAKAGAWA, J. Efeito da forma e do tamanho da semente na produtividade do milho cultivar AL-34. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 232-238, 2000.

MENEZES, N.L.; LERSCHI JUNIOR, I; STORCK, L. Qualidade física e fisiológica das sementes de milho após o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 97-102, 2002.

MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2005.

MORENO-MARTINEZ, E.; VAZQUEZ-BADILO, M.E.; RIVERA, A.; NANVARRETE, R.; ESQUIVEL-VILLAGRANA, F. Effect of seed shape and size on germination of corn (*Zea mays* L.) stored under adverse conditions. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 2, p. 439-448, 1998.

NASCIMENTO, W.M.; PESSOA, H.B.S.V.; BOITEUX, L.S. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 8, p. 1211-1214, 1994.

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

PETERSON, J.M.; PERDOMO, J.A.; BURRIS, J.S. Influence of kernel position, mechanical damage and controlled deterioration on estimates of hybrid maize seed quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 3, p. 647-657, 1995.

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

SADER, R.; CHALITA, C.; TEIXEIRA, L.G. Influência do tamanho e do beneficiamento na injúria mecânica de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 45-51, 1991.

SHIEH, W. J.; McDONALD, M.B. The influence of seed size, shape and treatment on inbreed seed corn quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 10, n. 2, p. 307-313, 1982.

SILVA, N. Melhoramento de milho doce. In: Encontro sobre temas de genética e melhoramento, 11., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1994. v. 11, p. 45-49.

SOAVE, J.; MORAES S. A. Medidas de controle de doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 192-216.

STYER, R.C.; CANTLIFFE, D.J. Infection of two endosperm mutants of sweet corn by *Fusarium moniliforme* and its effect on seedling vigor. **Phytopathology**, Berkeley, v. 74, n. 2, p. 189-194, 1984.

TRACY, W.F.; JUIK, J.A. Pericarp thickness of a Shunken-2 population of maize selected of improved field emergence. **Crop Science**, Madison, v. 29, n. 1, p. 72-74, 1989.

TUITE, J.; KOH-KNOX, C.; STROSHINE, R.; CANTONE, F.A.; BAUMAN, L.F. Effect of physical damage to corn kernels on the development of *Penicillium* species and *Aspergillus glaucus* in storage. **Phytopathology**, Berkeley, v. 75, n. 10, p. 1137-1140, 1985.

WOLTZ, J.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; VINCELLI, P. Corn cold test germination as influenced by soil moisture, temperature and pathogens. **Seed Technology**, Lansing, v. 20, n. 1, p. 56-70, 1998.

WORTMAN, L.S.; RINKE, E.H. Seed corn injury at various stages of processing and its effect upon cold test performance. **Agronomy Journal**, Madison, v. 43, n. 7, p. 229-305, 1951.

3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE MILHO DOCE EXPOSTAS ÀS INJÚRIAS MECÂNICAS, INCLUINDO A ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE PLÂNTULAS

Resumo

A ocorrência de injúrias mecânicas em sementes pode resultar em perdas significativas do potencial fisiológico, cuja avaliação precisa ser baseada em métodos confiáveis, rápidos e de fácil execução. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de milho doce expostas às injúrias mecânicas, incluindo o sistema computadorizado de avaliação do vigor (SVIS®), com o intuito de testar a sua eficiência em comparação com procedimentos tradicionalmente utilizados, como primeira contagem de germinação, condutividade elétrica, envelhecimento acelerado e frio. Sementes do híbrido 'SWB 551' (*sh2*) foram classificadas como grandes (G), médias (M) e pequenas (P) por meio de peneiras com perfurações oblongas. Assim, foram constituídas as classes G [22 x ¾ (8,73 mm x 19,05 mm)], M [20 x ¾ (7,94 mm x 19,05 mm)] e P [16 x ¾ (6,35 mm x 19,05 mm)]. Amostras de sementes de cada classe, com teor de água de 11% e 20% (b.u.) foram expostas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (0, 1, 3, 5 e 7 impactos) utilizando o equipamento *BC Impact Simulator* (modelo 2000, Dow AgroSciences®). Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e armazenadas durante seis meses em ambiente controlado (20°C e 50-60% de UR do ar). O potencial fisiológico das sementes foi avaliado no início e no final do período de armazenamento. A ocorrência de injúrias mecânicas nas sementes foi avaliada por meio de raios X (15 kV, 300 s). Foi observada baixa ocorrência de sementes com injúrias mecânicas severas, incidindo sobre o eixo embrionário (2 a 7%). Não foram confirmados os efeitos prejudiciais das injúrias mecânicas sobre o potencial fisiológico das sementes, entretanto, no geral, os piores resultados foram obtidos a partir de sementes expostas às injúrias com teor de água de 20%. O SVIS®, desenvolvido pela *The Ohio State University*, EUA, identificou diferenças entre tratamentos não observadas na primeira contagem de germinação e nos testes de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio. Para as classes G e M as diferenças entre os níveis de injúrias ocorreram principalmente dentro do lote A que possuía vigor mais baixo (índice de vigor de 500 a 650). As sementes da classe P apresentaram, no geral, vigor muito baixo (índice de vigor < 400) o que pode ter impossibilitado a expressão do efeito dos impactos e, consequentemente, a identificação de diferenças pelo SVIS®. Conclui-se que a exposição das sementes de milho doce às injúrias mecânicas não prejudica o potencial fisiológico. O SVIS® é uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes de milho doce.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Germinação; Vigor; SVIS

ASSESSMENT ON PHYSIOLOGICAL POTENTIAL OF SWEET CORN SEEDS SUBJECTED TO MECHANICAL DAMAGE, INCLUDING AN AUTOMATED COMPUTER IMAGING SYSTEM

Abstract

Mechanical damage in seeds may promote meaningful loss to the physiological potential of which evaluation must be based on trust, quick and easy to carry out procedures. The objective of this research was to evaluate the physiological potential of sweet corn seeds subjected to mechanical damage, including an automated computer imaging system (SVIS®) to verify its accuracy in comparison to traditional procedures such as germination first count, electrical conductivity, accelerated aging and cold tests. Seeds from hybrid 'SWB 551' (*sh2*) were classified as large (L), medium (M) and small (S) through oblong screens. Thus, the classes L [22 x $\frac{3}{4}$ (8.73 mm x 19.05 mm)], M [20 x $\frac{3}{4}$ (7.94 mm x 19.05 mm)] and S [16 x $\frac{3}{4}$ (6.35 mm x 19.05 mm)] were established. Samples of seeds from each class presenting 11% and 20% of moisture content (w.b.) were subjected to different levels of damage (0, 1, 3, 5 and 7 impacts) using the *BC Impact Simulator* (model 2000, Dow AgroSciences®) equipment. Seeds were then packed in paper bags and stored for five months in a controlled environment (20°C, 50-60% RH). Physiological potential of the seeds at the beginning and final storage period was evaluated. The damage occurrence was evaluated by X-ray (15 kV, 300 s). Low occurrence of seeds with severe mechanical damage, affecting the embryonic axis (2 to 7%) was observed. Harmful effects of the mechanical damage on physiological potential of the seeds were not confirmed, however, in general, the worst results were obtained from seeds subjected to mechanical damage presenting 20% of moisture content. Differences among treatments were not detected by germination first count, electrical conductivity, accelerated aging and cold tests, but they were identified by SVIS®. For L and M classes, differences among levels of damage occurred mainly within lot A that was lower in vigor (vigor index from 500 to 650). In general, seeds from S class showed very low vigor (vigor index < 400) which may have prevented the expression of the impact effects and hence the identification of differences by SVIS®. In conclusion, the physiological potential of sweet corn seeds is not affected by mechanical damage. SVIS® is a viable alternative to evaluate sweet corn seed vigor.

Keywords: *Zea mays* L.; Germination; Vigor; SVIS

3.1 Introdução

As relações entre a ocorrência de injúrias mecânicas em sementes e os efeitos sobre a sua qualidade tem sido frequentemente examinadas por vários pesquisadores (HALL, JOHNSON, 1970; CHOWDHURY, BUCHELE, 1975; ARAUJO et al., 1986; BORBA et al., 1994 e 1995; CICERO et al., 1998; ANDRADE et al., 1999; ARAÚJO et

al., 2002; CICERO e SILVA, 2003; OLIVEIRA et al., 2005). Em sementes de milho, por exemplo, as injúrias mecânicas provocaram redução do potencial de armazenamento e da massa de matéria seca das sementes durante o armazenamento (NG et al., 1998) e aquelas que incidiram diretamente sobre o eixo embrionário causaram sérios prejuízos à germinação (CICERO et al., 1998). Outros trabalhos também evidenciaram que a velocidade com que as sementes de milho foram submetidas às injúrias mecânicas, os níveis de injúrias (número de impactos) e o teor de água das sementes afetaram negativamente a sua qualidade (HALL, JOHNSON, 1970; CHAVES et al., 1992; ANDRADE et al., 1998). Embora sementes de milho contendo 12% de água (b.u.) e submetidas a até 10 impactos consecutivos contra uma placa de aço (queda livre de uma altura de 10 m) não tenham apresentado perda da germinação, o vigor, avaliado pelo teste de deterioração controlada, foi prejudicado (PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995).

No caso do milho doce, as informações da literatura se restringem basicamente na avaliação dos efeitos das injúrias em função da debulha mecânica (NASCIMENTO et al., 1994; WILSON JUNIOR et al., 1994; ARAÚJO et al., 2002). Nascimento et al. (1994) observaram que quando as sementes foram colhidas e debulhadas com teor de água de 12,4% (b.u.) a germinação não foi afetada, entretanto, o vigor, avaliado pelo teste de frio, apresentou significativa redução. Já, Araújo et al. (2002) concluíram que a melhor qualidade das sementes foi obtida quando debulhadas com aproximadamente 12% de água (b.u.), ocorrendo perdas do potencial fisiológico quando esta operação foi realizada com as sementes muito úmidas (17,4%) ou muito secas (9,1%). Também, tem sido observado que na avaliação dos efeitos das injúrias mecânicas sobre o potencial fisiológico das sementes de milho doce, alta eficiência do teste de frio (NASCIMENTO et al., 1994; ARAÚJO et al., 2002). Entretanto, conforme Marcos Filho, Cicero, Silva (1987), para se obter consistência das informações as avaliações do potencial fisiológico não podem ser baseadas em apenas um teste de vigor. Além disso, deve-se preconizar o uso de procedimentos que sejam de baixo custo, de fácil execução, que permitam a obtenção dos resultados em curto espaço de tempo e que apresentem resultados confiáveis.

No sentido de atender estas exigências e em resposta aos frequentes avanços tecnológicos ocorridos nos últimos anos, métodos computadorizados para a avaliação do vigor de sementes tem sido desenvolvidos. Recentemente, pesquisadores da *The Ohio State University*, EUA (Sako et al., 2001), elaboraram um sistema automatizado para avaliação do vigor de sementes, o *Seed Vigor Imaging System (SVIS®)*. Por este método, as imagens digitais de plântulas são capturadas por meio de um escâner conectado a um computador e, em seguida, processadas, gerando valores numéricos (índices de vigor) que representam coletivamente a qualidade das sementes do lote, baseada em valores obtidos a partir das características morfológicas das plântulas. Os dados incluem os comprimentos da parte aérea, da raiz primária e de toda a plântula e, também, a velocidade e a uniformidade do desenvolvimento de plântulas (SAKO et al., 2001).

O procedimento para avaliação do vigor de sementes por meio do *SVIS®* é simples e os resultados para uma amostra de 50 sementes, podem ser obtidos dentro de dois a três minutos (GOMES JUNIOR et al., 2009). Outras vantagens deste sistema incluem a eliminação do erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação, a possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior e o baixo custo, que segundo Gomes Junior et al. (2009) é equivalente ao custo para a avaliação da germinação.

O *SVIS®*, que foi desenvolvido para a avaliação do vigor de sementes de alface, após algumas adaptações, também tem sido eficiente na avaliação do potencial fisiológico de sementes de outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al, 2003; HOFFMASTER et al, 2005; MARCOS FILHO, KIKUTI, LIMA, 2009), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI, McDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006) e feijão (GOMES JUNIOR, CHAMMA, 2008), sendo sua utilização também estendida para a avaliação da eficiência do condicionamento fisiológico de sementes de milho doce (GOMES JUNIOR et al., 2009). Estas evidências indicam que este programa representa uma ferramenta promissora para avaliação do vigor de sementes de outras espécies em diferentes finalidades na área de Tecnologia de Sementes.

Neste contexto, o uso do *SVIS®* pode ser eficiente na identificação de diferenças entre lotes com germinação semelhante, cujas plântulas apresentam pequenas

diferenças de tamanho, dificilmente detectadas pelo olho humano. A quantificação destas evidências por meio de índices numéricos que expressem o vigor das sementes também pode ser considerada uma vantagem do SVIS®. Contudo, ainda não existem trabalhos relacionando a uso deste programa para a avaliação do vigor de sementes expostas às injúrias mecânicas.

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de milho doce expostas às injúrias mecânicas, incluindo o sistema computadorizado de avaliação do vigor (SVIS®), com o intuito de testar a sua eficiência em comparação com procedimentos tradicionalmente utilizados como primeira contagem de germinação, condutividade elétrica, envelhecimento acelerado e frio.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal (LPV) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP e no Laboratório de Biologia de Sementes (*Seed Biology Laboratory*) do Departamento de Horticultura e Produção Vegetal (*Department of Horticulture and Crop Science*) da Universidade Estadual de Ohio (*The Ohio State University*) em Columbus, Ohio, EUA. Foram avaliadas três classes de sementes híbridas de milho doce *shrunk2* (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® provenientes de Jardinópolis, SP, classificadas em peneiras com crivos oblongos, constituindo-se, com suas respectivas dimensões de largura e comprimento, as classes G [22 x $\frac{3}{4}$ (8,73 mm x 19,05 mm)], M [20 x $\frac{3}{4}$ (7,94 mm x 19,05 mm)] e P [16 x $\frac{3}{4}$ (6,35 mm x 19,05 mm)]. As sementes, previamente tratadas com Fludioxonil, Metalaxil-M, Pirimifós-metílico e Deltametrina (0,038, 0,015, 0,015 e 0,015 g do i.a. kg⁻¹ de semente, respectivamente) foram expostas às injúrias mecânicas utilizando o equipamento *BC Impact Simulator* (modelo 2000, Dow AgroSciences®). As sementes de uma amostra de 700 g, por tratamento, ao serem

despejadas na moega de entrada, foram projetadas contra uma placa de aço inoxidável posicionada a 10 cm da saída de um jato de ar comprimido com pressão de 965 KPa. Posteriormente, as sementes foram depositadas em uma gaveta localizada na base do equipamento. Cada amostra foi despejada manualmente na moega de entrada com o auxílio de uma calha metálica visando à uniformidade do fluxo de entrada das sementes. Assim, foi possível estabelecer, de maneira controlada, diferentes níveis de injúrias mecânicas nas sementes.

As sementes de cada classe com teores de água de aproximadamente 11% e 20% (b.u.), foram expostas a cinco níveis de injúrias mecânicas, correspondendo a zero, um, três, cinco e sete impactos contra a placa metálica. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e os tratamentos (10) definidos a partir de um esquema fatorial (2×5) pela combinação entre teor de água das sementes e níveis de injúrias mecânicas (número de impactos). Inicialmente as sementes apresentavam teor de água de aproximadamente 11% (b.u.) e o ajuste para 20% (b.u.) foi realizado segundo a metodologia da atmosfera controlada (ROSSETO, FERNANDEZ, MARCOS FILHO, 1995). A secagem das sementes com teor de água de 20%, após a exposição às injúrias mecânicas, foi realizada na temperatura de 32°C, até a obtenção do teor de água inicial.

Após o procedimento para a exposição das sementes às injúrias mecânicas, a amostra de cada tratamento foi dividida em duas subamostras, uma utilizada para a realização das avaliações de germinação e vigor (testes de primeira contagem de germinação, de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio) imediatamente após as sementes serem injuriadas e a outra acondicionada em sacos de papel Kraft e armazenada em ambiente com temperatura de 20°C e 50-60% de umidade relativa do ar durante seis meses e, em seguida, submetida às mesmas avaliações realizadas antes do armazenamento. As avaliações utilizando o SVIS® foram realizadas apenas após dez meses de armazenamento.

Inicialmente foi realizada a caracterização das sementes de cada classe por meio da determinação da massa de mil sementes. A determinação do teor de água das sementes foi realizada antes e após o armazenamento e após o teste de envelhecimento acelerado. Para determinação da massa de mil sementes, foram

contadas oito repetições de 100 sementes de cada classe e pesadas em balança com duas casas decimais (0,01 g). O resultado final, expresso em gramas e com uma casa decimal, foi obtido multiplicando-se por 10 o valor médio das repetições, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 1992). Os valores foram corrigidos para o teor de água de 13% (b.u.). O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa, a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas (BRASIL, 1992), com duas amostras de 5 g de cada classe de semente. Os resultados foram expressos em percentual médio, tendo como base o peso úmido, sem submeter-se à análise estatística.

A ocorrência das injúrias mecânicas nas sementes foi avaliada por meio de raios X, empregando-se 200 sementes de cada classe de cada lote e para cada nível de injúrias mecânicas, dentro de cada teor de água. Cinquenta sementes de cada vez foram dispostas em alvéolos individualizados de uma placa acrílica, colocando-se por baixo uma fita adesiva transparente para fixar a semente em posição adequada; as sementes foram numeradas de acordo com a posição ocupada na placa de maneira que pudessem ser identificadas nas avaliações posteriores. A placa contendo as sementes foi posicionada diretamente sobre um filme radiográfico (Kodak MIN-R EV, tamanho de 18 cm x 24 cm), a uma distância de 35 cm da fonte de radiação. As imagens foram obtidas com intensidade de 15 kV e 300 s de exposição, utilizando-se equipamento FAXITRON X-Ray, modelo MX-20. A revelação foi efetuada numa processadora Hope X-Ray, modelo 319 Micromax. Posteriormente, as imagens dos filmes de raios X foram digitalizadas por meio do Scanner Umax, modelo PowerLook 1100, para ampliação e visualização em computador Core 2 Duo 6400 (2.13 GHz, 2GB de memória RAM, Hard Disk SATA II de 350 GB e monitor de 21 polegadas). Com base no local de ocorrência na semente, as injúrias foram classificadas como ausentes, moderadas e severas. As injúrias moderadas foram caracterizadas como ocorrendo no endosperma e, ou escutelo, porém sem atingir o eixo embrionário e as injúrias severas quando incidiram sobre o eixo embrionário, independentemente de terem ocorrido ou não injúrias em outras partes da semente. Os resultados foram expressos em percentuais de sementes com injúrias em relação ao total de 200 sementes, sem submeter-se à análise estatística.

Na avaliação da germinação foram utilizados os critérios prescritos nas RAS (BRASIL, 1992), exceto para o número de sementes avaliadas, que foram de 200, divididas em quatro amostras de 50, sendo cada amostra uma repetição. Foi utilizado como substrato o papel toalha umedecido com água numa proporção de massa de 2,5:1 (água: papel). Os rolos contendo as sementes foram levados ao germinador à temperatura de 25°C e as contagens foram realizadas após quatro (primeira contagem de germinação) e sete dias. O resultado final de germinação foi obtido computando-se as plântulas normais observadas na primeira e última contagem, com valores expressos em percentuais.

O teste de condutividade elétrica foi realizado pelo sistema massal, segundo metodologia proposta pelo comitê de vigor da AOSA (1983). Quatro repetições de 50 sementes sem escolha, previamente pesadas em balança com três casas decimais (0,001 g), foram colocadas em copos plásticos com capacidade de 200 mL, contendo 75 mL de água deionizada. Os copos foram mantidos em germinador durante 24 horas à temperatura de 25°C. Após esse período, a leitura da condutividade elétrica da solução foi realizada utilizando o aparelho da marca DIGIMED®, modelo DM-31. Os valores das leituras de cada repetição foram divididos pela massa inicial, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de semente.

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado segundo o método proposto por McDonald e Phaneendranath (1978) descrito por Marcos Filho (1994), colocando-se uma camada única de sementes sobre uma tela de inox ajustada dentro de uma caixa de plástico transparente com dimensões de 11 cm x 11 cm x 3,5 cm, contendo no fundo 40 mL de água. Após a colocação da tampa, as caixas foram mantidas no interior de uma câmara tipo BOD durante o período de 72 horas a 41°C. Ao término desse período foram semeadas quatro repetições de 50 sementes segundo a metodologia descrita para a avaliação de germinação. A avaliação foi realizada aos quatro dias após a semeadura e os resultados expressos em percentuais de plântulas normais.

O teste de frio foi realizado pelo método do rolo de papel com terra. Quatro repetições de 50 sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel toalha previamente umedecidas com água numa proporção de massa de 2,7:1 (água: papel) e cobertas com uma fina camada de terra, proveniente de uma área que havia sido

cultivada com milho e com mais uma folha de papel toalha. Após a semeadura, os rolos foram colocados em caixas de plástico, vedadas, e incubadas em câmara fria a 10°C por sete dias. Após, os rolos foram retirados das caixas e transferidos para germinador a 25°C onde permaneceram por 5 dias. O resultado foi expresso em percentuais de plântulas normais.

Na avaliação do vigor por meio do *SVIS*®, cinquenta sementes de cada repetição foram distribuídas sobre uma folha de papel para germinação (76 cm x 38 cm), previamente umedecida com água, e coberta por uma outra. Os rolos contendo as sementes foram colocados em germinador a 25°C durante três dias. Após este período foi realizada a aquisição das imagens das plântulas por meio de um escâner Epson GT-15000 com área de escaneamento de 43 cm x 29 cm, instalado em posição invertida, ajustado na resolução de 100 dpi e acoplado a um computador Core 2 Duo (2GB de memória RAM e HD de 160GB). As imagens foram processadas, sendo gerados os índices de vigor (IV), de crescimento (IC) e de uniformidade de crescimento (IU) conforme descrito por Hoffmaster et al. (2003). O índice de vigor é resultante da combinação entre os índices de crescimento e de uniformidade, que podem variar de um valor mínimo de zero a um máximo de 1000. Os dados foram obtidos estabelecendo como 5,1 cm o tamanho máximo de plântula. Foram testadas três combinações para composição do índice de vigor: $IV_{30/70} = [(0,3 \times IC) + (0,7 \times IU)]$, $IV_{50/50} = [(0,5 \times IC) + (0,5 \times IU)]$ e $IV_{70/30} = [(0,7 \times IC) + (0,3 \times IU)]$. A classificação do vigor das sementes foi realizada seguindo a definição das classes alto (IV = 800 a 1000), médio (IV = 600 a 799), baixo (IV = 400 a 599) e muito baixo (IV = abaixo de 400).

Os dados de germinação e primeira contagem de germinação e dos testes de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio, bem como os dados dos índices de crescimento, de uniformidade e de vigor obtidos a partir do *SVIS*® foram submetidos à análise da variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.2.2 Resultados e discussão

Na caracterização inicial, a massa de mil sementes correspondente às classes G, M e P do lote A foi de 178,3 g, 155,7 g e 133,0 g e do lote B, de 179,3 g, 156,0 g e 133,5 g, respectivamente. Houve aumento do percentual de sementes com injúrias mecânicas com o aumento do número de impactos e o valor máximo de sementes injuriadas (moderadas + severas) foi de 21%, conforme pode ser observado para a classe P, lote A, no tratamento com sete impactos, teor de água de 20% (Tabela 16). Entretanto, a ocorrência de sementes com injúrias classificadas como severas foi baixa (2 a 7%), indicando que o eixo embrionário foi pouco atingido, possivelmente devido à proteção exercida pelo escutelo e tecido endospermático. Também, não houve ampla variação no percentual de sementes injuriadas entre os teores de água das sementes de 11% e 20%, conforme se observa nos valores separados por uma barra dentro de cada número de impactos (Tabela 16).

Tabela 16 – Percentual de sementes injuriadas, identificadas por meio de raios X, em dois lotes (A e B) de cada classe de semente (G, M e P) de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20%

Injúrias mecânicas	Lote A					Lote B				
	Número de Impactos					Número de Impactos				
	0	1	3	5	7	0	1	3	5	7
Classe G										
Ausentes	99/100 ¹	91/93	88/89	87/88	83/86	100/100	89/92	88/88	87/86	83/84
Moderadas ²	1/-	6/5	8/6	9/6	15/8	-/-	7/6	8/8	9/7	11/9
Severas ³	-/-	3/2	4/5	4/6	2/6	-/-	4/2	4/4	4/7	6/7
Classe M										
Ausentes	100/100	90/89	88/90	87/83	85/86	100/100	95/93	90/89	86/87	85/86
Moderadas	-/-	7/8	7/6	10/12	10/10	-/-	5/4	8/9	10/9	11/10
Severas	-/-	3/3	5/4	3/5	5/4	-/-	-/3	2/2	4/4	4/4
Classe P										
Ausentes	100/100	90/86	91/87	83/85	85/79	100/100	86/87	86/88	84/83	83/83
Moderadas	-/-	7/10	5/10	12/10	11/16	-/-	11/10	9/9	13/13	13/12
Severas	-/-	3/4	4/3	5/5	4/5	-/-	3/3	5/3	3/4	4/5

¹O primeiro e o segundo números correspondem, respectivamente, ao percentual de sementes injuriadas após serem expostas a diferentes níveis de injúrias mecânicas contendo 11% e 20% de água (b.u.)

²Moderadas: injúrias no endosperma e, ou escutelo, porém sem atingir o eixo embrionário

³Severas: injúrias no eixo embrionário

Não foram observados efeitos dos impactos ($p>0,05$) sobre a germinação das sementes antes do armazenamento (Figura 3). Para todas as classes, dentro de cada teor de água, a germinação das sementes que não foram expostas às injúrias mecânicas foi semelhante à das sementes que foram submetidas ao nível máximo de injúrias. Possivelmente isso tenha ocorrido devido ao baixo percentual de sementes com injúrias classificadas como severas (Tabela 16).

Em sementes de milho alguns pesquisadores observaram que a germinação foi prejudicada quando as injúrias mecânicas ocorreram próximas do eixo embrionário (WORTMAN e RINKE, 1951; CICERO e SILVA, 2003). Por meio de imagens radiográficas de sementes de milho, Cicero et al. (1998) relacionaram o desenvolvimento de plântulas anormais em decorrência de injúrias mecânicas localizadas transversalmente ao eixo embrionário, com a restrição da translocação de nutrientes para o crescimento do embrião. Nesta pesquisa a ocorrência de injúrias transversais ao eixo embrionário, caracterizadas como severas, foi pouco evidenciada e, mesmo que o percentual de sementes com injúrias classificadas como moderadas, que também incluíam aquelas localizadas próximas do eixo embrionário, tenha aumentado em função dos impactos, não houve perda da germinação. Estes resultados vem ao encontro dos evidenciados por Nascimento et al. (1994) que não observaram prejuízos à germinação de sementes de milho doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. Estes autores enfatizaram que mesmo ocorrendo injúrias nas sementes colhidas mecanicamente, a germinação pode não ser afetada em vista do local da sua incidência.

Os efeitos do teor de água das sementes sobre a germinação foram evidenciados principalmente para as sementes da classe P dos dois lotes, embora também tenha sido observado em alguns tratamentos das classes G e M do lote B (Figura 3). Em todas as situações em que foram constatadas diferenças, as sementes que foram expostas às injúrias mecânicas com teor de água de 11% apresentaram maior germinação em comparação ao teor de água de 20%.

Observa-se na Figura 3 que as sementes da classe P, lote A, antes de serem expostas às injúrias mecânicas já apresentavam germinação abaixo do limite de 75% (linha pontilhada) exigido para comercialização de sementes certificadas, conforme

especificado na Instrução Normativa n. 25 (BRASIL, 2005). Entretanto, para as sementes do lote B desta mesma classe, quando foram expostas às injúrias com teor de água de 20% a perda de germinação inviabilizou as sementes para comercialização, o que não havia sido observado para o teor de água de 11%.

Ressalta-se, entretanto, que as diferenças entre os teores de água ocorreram em todos os tratamentos, inclusive aquele em que as sementes não foram expostas às injúrias mecânicas. Provavelmente, a hidratação seguida da secagem tenha provocado perda do vigor das sementes. Sabe-se que a semente de milho doce é pobre em amido, 30 a 35% contra 60 a 70% da semente de milho comum (SILVA, 1994), sendo que o início e interrupção da atividade metabólica, antes do início visível da germinação, pode ter provocado redução do potencial fisiológico devido ao consumo de reservas. Analisando as relações entre as reservas de carboidratos e o potencial fisiológico da semente de milho doce de 24 genótipos, Douglass, Juvik, Splittstoesser (1993) observaram correlação positiva entre o aumento do teor de amido da semente com a emergência de plântula em campo. O fato de ter sido observada menor germinação em alguns tratamentos das classes G e M, no que se refere ao teor de água, não descartam a possibilidade do consumo de reservas para a reparação de tecidos lesionados. Entretanto, como as sementes maiores, ou seja, as localizadas na base e no meio da espiga estão sujeitas ao maior acúmulo de reservas (SHIEH, McDONALD, 1982), os efeitos sobre a perda de germinação podem ter sido menos expressivos em relação às sementes da classe P, localizadas no ápice da espiga.

Antes do armazenamento, o efeito das injúrias mecânicas sobre o vigor das sementes foi constatado com a diminuição do percentual de plântulas normais na primeira contagem de germinação, porém isto não ocorreu em todas as classes e lotes de sementes. Observa-se na Figura 4 que as sementes das classes M e P, lote A, teor de água de 20%, submetidas a sete impactos tiveram menor germinação ($p \leq 0,05$) em comparação com aquelas não expostas às injúrias mecânicas. Entretanto, os impactos consecutivos não interferiram nos resultados do teste de condutividade elétrica, com exceção para a classe P, lote A, teor de água de 11% (Figura 5). Para esta classe, as leituras aumentaram em função do número de impactos, sendo o maior valor obtido no tratamento com sete impactos que diferiu ($p \leq 0,05$) do tratamento com zero impacto.

Estes resultados corroboram com os observados por Araújo et al. (2002) que indicaram efeito prejudicial das injúrias provocadas pela debulha avaliadas por meio do teste de condutividade elétrica, antes do armazenamento.

No geral, os efeitos do teor de água não foram observados nos resultados do teste de condutividade elétrica, porém, os resultados de primeira contagem de germinação evidenciaram que a redução dos percentuais de plântulas normais correspondente às sementes submetidas às injúrias com teor de água de 20% em relação teor de água de 11% ocorreu, principalmente, nas sementes do lote B (Figura 4). Para o lote A essas diferenças foram constatadas apenas dentro do tratamento com sete impactos, classe M, e dentro dos tratamentos com cinco e sete impactos, classe P. Ainda na Figura 4, comparando os resultados de primeira contagem de germinação entre os dois lotes, observa-se que a redução dos percentuais correspondentes às sementes do lote B, teor de água de 20%, se aproximou dos valores observados para as sementes do lote A, expostas às injúrias com teor de água de 11%, independentemente da classe de sementes. Estas evidências sugerem que a elevação do teor de água das sementes do lote B tenha provocado a perda do potencial fisiológico das sementes, que foi reduzido a um nível mínimo próximo do que já estava estabelecido nas sementes do lote A, ou seja, aproximadamente 25% a 40%, 45% a 60% e 50% a 60%, para as classes G, M e P, respectivamente.

Diferenças entre níveis de injúrias no teste de envelhecimento acelerado ocorreram apenas quando as sementes das classes G e P, lote B, apresentavam teor de água de 20% (Figura 6). Para a classe G, o vigor das sementes não expostas às injúrias foi superior ($p \leq 0,05$) ao das sementes do tratamento com três impactos. Já, para a classe P, as sementes não expostas às injúrias tiveram o pior resultado e diferiu do tratamento com um impacto. Neste teste, o efeito do teor de água das sementes foi pouco evidenciado.

No teste de frio, diferenças entre tratamentos de níveis de injúrias foram constatadas apenas para as sementes do lote A (Figura 7). Em todas as classes de sementes expostas às injúrias com teor de água de 11% houve aumento do percentual de plântulas normais em função dos impactos. Observa-se que para as classes G, M e P os maiores valores foram obtidos no tratamento com sete impactos e os menores no

tratamento com zero impacto, discordando dos resultados de Nascimento et al. (1994), que constataram redução do vigor pelo teste de frio com o aumento do percentual de sementes de milho doce com injúrias mecânicas no pericarpo. Entretanto, ao observar os resultados referentes ao teor de água de 20% essas diferenças não ocorreram. Além disso, diferentemente dos outros testes de vigor, as sementes que foram expostas às injúrias com teor de água de 20%, no geral, apresentaram melhores resultados. As diferenças ocorreram principalmente nas sementes do lote A, mas também foram observadas nas sementes da classe M, lote B.

Os efeitos do teor de água sobre as perdas do potencial fisiológico de sementes de milho doce encontrados na literatura, embora existentes, não avaliaram as injúrias mecânicas provocadas por impactos. Apesar disso, os resultados obtidos por Araújo et al. (2002) evidenciaram que a debulha mecânica com baixa velocidade do cilindro debulhador (250 rpm) provocou perdas significativas do potencial fisiológico das sementes. Observaram também que a melhor qualidade das sementes foi obtida quando debulhadas com teor de água de aproximadamente 12% (b.u.), aumentando as perdas quando as sementes estavam mais úmidas (17,4%) ou mais secas (9,1%), embora tenham sido mais intensas para o teor de água de 17,4%. Trabalhando com sementes de milho comum com teor de água de 12% (b.u.) Peterson, Perdomo, Burris (1995) observaram efeitos negativos de injúrias provocadas por impactos sobre o vigor das sementes, porém utilizaram apenas o teste de deterioração controlada na avaliação.

Figura 3 – Resultados de germinação de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.). Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 4 – Resultados de primeira contagem de germinação (PCG) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.). Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 5 – Resultados do teste de condutividade elétrica (CE) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.). Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 6 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (EA) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.). Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$)

Figura 7 – Resultados do teste de frio (TF) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P obtidos imediatamente após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.). Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Após seis meses de armazenamento, a germinação das sementes da classe P, lote B, expostas às injúrias mecânicas com teor de água de 11% e a maioria dos tratamentos correspondentes às sementes da classe G e M, lote A, que era superior a 75%, foi reduzida a percentuais abaixo desse valor. Nesta época de avaliação, o efeito dos impactos sobre a perda de germinação das sementes ocorreu apenas para a classe M, lote A (Figura 8). Houve redução significativa da germinação com o aumento do nível de injúrias em sementes com teor de água de 20%, sendo as diferenças ($p \leq 0,05$) constatadas entre os tratamentos com zero e sete impactos.

Também, os efeitos dos tratamentos sobre o vigor das sementes foi pouco evidenciado após o armazenamento. Assim como foi constatado nas avaliações antes do armazenamento, as diferenças entre níveis de injúrias, quando identificadas por um determinado teste de vigor, não foram confirmadas pelos outros testes. Por exemplo, quando as sementes da classe M, lote B, foram submetidas às injúrias mecânicas com teor de água de 20% (Figura 9), o tratamento com sete impactos apresentou menor percentual de plântulas normais na primeira contagem de germinação em comparação com os tratamentos com zero, um e cinco impactos, indiciando redução do vigor das sementes durante o armazenamento, corroborando com os resultados de Ng et al., (1998) em sementes de milho. Entretanto, essas diferenças não foram confirmadas pelos testes de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio (Figuras 10, 11 e 12). Os resultados destes dois últimos testes, principalmente do teste de frio, tiveram expressiva redução em relação à avaliação antes do armazenamento, com valores próximos de zero, conforme se observa na Figura 12, impossibilitando a constatação de diferenças entre tratamentos.

Também, conforme observado nas Figuras 6, 7, 11 e 12, os coeficientes de variação dos dados dos testes de envelhecimento acelerado e de frio foram altos, principalmente nas avaliações após o armazenamento. Observa-se ainda que os coeficientes aumentaram com a diminuição do tamanho das sementes e, no geral, foram maiores nas sementes do lote A, que foi classificado como o de mais baixo vigor. Isto demonstra a dificuldade de realizar pesquisas com este tipo de semente, principalmente quando exposta às condições de estresse. Além disso, em algumas situações os tratamentos correspondentes aos maiores níveis de injúrias mecânicas

apresentaram resultados superiores ($p \leq 0,05$) em relação aos tratamentos com menores níveis de injúrias. Observando os percentuais de plântulas normais da primeira contagem de germinação das sementes da classe P, lote B, submetidas às injúrias com teor de água de 11% (Figura 9), o maior valor ocorreu para o tratamento com sete impactos e o menor para o tratamento com zero impacto. De maneira similar, os resultados do teste de envelhecimento acelerado das sementes da classe M, lote B, também submetidas às injúrias com teor de água de 11% (Figura 11), mostraram que o tratamento com sete impactos foi superior ao tratamento cujas sementes não foram expostas às injúrias. Já, no teste de condutividade elétrica diferenças entre níveis de injúrias ocorreram apenas entre os tratamentos com zero e cinco impactos para classe P, lote B, quando as sementes apresentavam teor de água de 11% (Figura 10).

Cabe salientar que a variação do teor de água das sementes após o teste de envelhecimento acelerado, considerando as duas épocas de avaliação e os dados correspondentes aos tratamentos de níveis de injúrias, foi de no máximo 3,6% e 2,7% para os lotes A e B, respectivamente, evidenciando que não deve ter ocorrido influência do teor de água das sementes sobre os resultados do teste. Considerando as duas épocas, ao final do período de envelhecimento, o teor de água das sementes das classes G, M e P, foram respectivamente, 25,5%, 26,8% e 25,4% para o lote A e 24,5%, 25,3% e 25,7% para o lote B.

Assim como observado nas avaliações realizadas antes do armazenamento, as sementes que foram submetidas às injúrias mecânicas com teor de água de 20% apresentaram, no geral, potencial fisiológico inferior àquelas submetidas às injúrias com teor de água de 11%. Ressalta-se, entretanto, que essas diferenças, na maioria das vezes ocorreram aleatoriamente entre os níveis de injúrias, sem evidenciar efeito negativo dos impactos provocados às sementes. Exceção a este fato foi constatada na primeira contagem de germinação das sementes do lote B, classe M (Figura 9), quando as injúrias provocadas às sementes com teor de água de 20% indicaram a ocorrência de prejuízos ao seu potencial fisiológico. Entretanto, esses resultados não foram confirmados pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio (Figuras 11 e 12). Ao analisar os efeitos da debulha mecânica de sementes de milho doce, Araújo et al. (2002) também não encontraram concordância entre os resultados dos testes de vigor realizados antes e após o armazenamento.

Figura 8 – Resultados de germinação de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 9 – Resultados de primeira contagem de germinação (PCG) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$)

Figura 10 – Resultados do teste de condutividade elétrica (CE) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 11 – Resultados do teste de envelhecimento acelerado (EA) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 12 – Resultados do teste de frio (TF) de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® das classes G, M e P após serem submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante seis meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Nas avaliações realizadas por meio do SVIS® foi observado que os impactos consecutivos não exerceram influência significativa ($p>0,05$) sobre o índice de crescimento das plântulas oriundas de sementes da classe G (Figura 13). Entretanto, observa-se que para o índice de uniformidade, teor de água de 20%, houve diferenças ($p\leq 0,05$) entre tratamentos dos lotes A e B (Figura 13).

Figura 13 – Índices de crescimento e de uniformidade obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® da classe G submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$)

Cabe ressaltar que, na presente pesquisa, a utilização da análise computadorizada de plântulas foi introduzida com o objetivo de identificar e quantificar diferenças entre tratamentos baseadas no crescimento das plântulas. Essas diferenças,

embora identificadas, dificilmente seriam quantificadas a partir de avaliações fundamentadas exclusivamente em análises visuais, como efetuadas nos testes de germinação, de envelhecimento acelerado e de frio, isto porque, durante as avaliações destes testes, as diferenças entre tamanho de plântulas quase sempre eram notórias.

Para o lote A, foi constatado menor índice de uniformidade das plântulas oriundas de sementes submetidas a sete impactos em comparação com as plântulas relativas ao tratamento com um impacto. Para o lote B, o pior resultado também ocorreu no tratamento com sete impactos que diferiu ($p \leq 0,05$) do tratamento com cinco impactos. O efeito do teor de água das sementes no momento do impacto foi observado dentro de alguns tratamentos, inclusive para aquele cujas sementes não foram expostas às injúrias. Estes resultados fortalecem a hipótese de que a hidratação para exposição das sementes às injúrias mecânicas e a posterior secagem tenham provocado perda do vigor das sementes. Em todas as situações em que foram observadas diferenças, o tratamento com teor de água de 20% apresentou resultados inferiores ao tratamento com teor de água de 11%.

Para os índices de vigor relativos às sementes da classe G, diferenças significativas ocorreram apenas entre tratamentos do lote A, teor de água de 20% (Figura 14), com redução dos índices em função dos níveis de injúrias. Ressalta-se, entretanto, que estas diferenças não foram observadas nos testes de condutividade elétrica, de primeira contagem de germinação, de envelhecimento acelerado e de frio (Figuras 9 a 12). Observa-se que os resultados dos testes de condutividade elétrica e de primeira contagem de germinação, embora sem apresentarem diferenças estatísticas entre níveis de injúrias, indicaram comportamento semelhante aos observados para os índices de vigor. Trabalhando com sementes de melão, Marcos Filho et al. (2006) verificaram que o vigor das sementes, avaliado por meio do SVIS®, apresentou valores consistentes em comparação com os resultados de primeira contagem e velocidade de germinação, de envelhecimento acelerado e de emergência de plântulas. Estes resultados indicam que a análise computadorizada de plântulas pode representar uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes e com eficiência equivalente aos testes de vigor tradicionalmente utilizados, constituindo, dessa forma, uma ferramenta a mais para integrar aos programas de controle de qualidade das empresas produtoras de sementes.

Figura 14 – Índices de vigor obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® da classe G submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Observa-se na Figura 14 que o índice de vigor 30/70 permitiu identificar diferenças ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos com zero e sete impactos, enquanto que para o índice de vigor 50/50 as diferenças ocorreram entre os tratamentos com um e sete impactos. Já, para o índice de vigor 70/30, os tratamentos com zero e um impacto que não diferiram entre si, foram superiores ao tratamento com sete impactos. Entretanto, analisando os resultados correspondentes ao tratamento com maior nível de injúrias, em todas as combinações testadas para composição dos índices de vigor, o vigor foi reduzido à classe baixa (índices de 400 a 599).

Visando avaliar a eficiência do SVIS® na identificação de diferenças entre tratamentos de condicionamento fisiológico em sementes de milho doce, Gomes Junior et al. (2009) observaram resultados mais consistentes utilizando o índice de vigor 70/30 em comparação aos índices 30/70 e 50/50. Entretanto, nesta pesquisa todas as combinações testadas para a obtenção deste índice referente às sementes do lote A, classe G, permitiram identificar, de maneira semelhante, diferenças entre os tratamentos de níveis de injúrias. No caso do lote B, embora tenha apresentado diferenças ($p \leq 0,05$) entre tratamentos para o índice de uniformidade (Figura 13), os índices de vigor não foram alterados.

No geral, para a classe M, os piores resultados dos índices de vigor foram observados para as sementes expostas às injúrias mecânicas com teor de água de 20% (Figura 16). Foram identificadas diferenças entre alguns tratamentos para o índice de crescimento do lote B e para o índice de uniformidade dos lotes A e B (Figura 15). Entretanto, os resultados mostraram-se incoerentes, pois o aumento do número de impactos não foi relacionado com a redução do tamanho das plântulas (índice de crescimento), confirmando os resultados observados no teste de envelhecimento acelerado (Figura 11) quando foi observado aumento do percentual de plântulas normais em função dos impactos. Trabalhando com sementes de soja, Marcos Filho, Kikuti, Lima (2009) também constataram que o SVIS® possui eficiência comparável à do teste de envelhecimento acelerado, contudo, essa sensibilidade foi mais acentuada quando o sistema foi utilizado para avaliação do crescimento de plântulas.

Observa-se ainda que, de maneira similar ao observado para os índices de vigor relativos às sementes da classe G, lote A, teor de água de 20% (Figura 14), os índices

de vigor do lote A, classe M, teor de água de 11% (Figura 16) apresentaram diferenças significativas, o que não havia sido detectado na avaliação da primeira contagem de germinação e nos testes de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio (Figuras 9 a 12), demonstrando que o SVIS® foi eficiente para identificar variações entre tratamentos. Cabe salientar que a análise computadorizada foi realizada quatro meses após a realização daqueles testes, o que pode ter constituído um fator para a constatação dessas diferenças.

Figura 15 – Índices de crescimento e de uniformidade obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® da classe M submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Observa-se na Figura 16, lote A, teor de água de 11%, que para todos os índices de vigor, o tratamento com zero impacto apresentou os menores valores. Este comportamento também foi evidenciado no teste de frio (Figura 7) e na primeira contagem de germinação, lote B, classe P (Figura 9). Possivelmente, as aberturas provocadas no pericarpo em decorrência dos impactos, podem ter beneficiado a germinação. Segundo Wolf et al. (1952) a absorção de água pela semente de milho se dá em dois estágios: inicialmente ocorre rápida absorção de água pelo pericarpo e, em seguida, ocorre penetração muito lenta de água no endosperma e embrião. Assim, o aumento do percentual de sementes injuriadas pode ter favorecido à absorção rápida e uniforme de água devido à penetração por diversas áreas da semente e ao preenchimento dos espaços formados entre o pericarpo e a camada de aleurona, promovendo o rápido crescimento das plântulas.

Ainda, o tratamento das sementes pode ter impedido o desenvolvimento de fungos prejudiciais à germinação. Segundo Douglass, Juvik, Splittstoesser (1993), a perda de açúcares do endosperma resulta na redução da quantidade de energia disponível para o embrião e também fornece substratos para o crescimento de patógenos sobre a semente ou ao seu redor. Mesmo que as injúrias provocadas no pericarpo tenham favorecido a exudação de compostos favoráveis ao crescimento de fungos, principalmente no teste de frio, isto não ocorreu como era esperado. Tem sido observado que o tratamento da semente de milho super doce com fungicidas além de não interferir na germinação, favorece o eficiente controle de fungos associados às sementes (RAMOS et al., 2008). Assim, o tratamento das sementes pode ter favorecido o controle dos fungos, permitindo a obtenção de incrementos do percentual de germinação com o aumento do percentual de sementes com injúrias no pericarpo, como resultado da maior rapidez e uniformidade de absorção de água mencionada anteriormente.

Figura 16 – Índices de vigor obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (sh2) 'SWB 551' Dow AgroSciences® da classe M submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 17 – Índices de crescimento e de uniformidade obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® da classe P submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Não foram evidenciados efeitos das injúrias mecânicas sobre os resultados dos índices de vigor das sementes da classe P (Figura 18), possivelmente devido ao baixo vigor inicial das sementes. Essas sementes já apresentavam baixo potencial fisiológico quando foram expostas às injúrias (Figuras 3 a 7) e após seis meses de armazenamento a redução foi mais drástica, conforme confirmado pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio (Figuras 11 e 12), impossibilitando, consequentemente, a identificação de diferenças entre tratamentos pelo SVIS®. Dificuldades na identificação de diferenças utilizando este programa também podem

ocorrer quando o potencial fisiológico das sementes é alto, conforme foi constatado por Marcos Filho, Kikuti, Lima (2009) que trabalharam com sementes de soja e não observaram diferenças no índice de vigor de diferentes lotes, o que foi atribuído ao alto potencial fisiológico das sementes.

Nas Figuras 19 e 20 são apresentados exemplos de imagens avaliadas pelo *SVIS*® de cada classe de semente. Observa-se nas imagens relativas à classe P (E e F de cada figura) a alta ocorrência de sementes mortas (marcadas de verde). Isso resultou na obtenção de baixos índices de vigor (circulados de vermelho). Para a classe P, diferenças entre níveis de injúrias ocorreram apenas para o índice de uniformidade dentro do teor de água de 20% com os tratamentos com zero e cinco impactos sendo superiores ($p \leq 0,05$) aos tratamentos com um e três impactos do lote A (Figura 17). Esses dois tratamentos resultaram, conseqüentemente, em baixos índices de vigor confirmados pelas diferenças significativas observadas entre os teores de água para os índices de vigor 50/50 e 70/30 (Figura 18).

Figura 18 – Índices de vigor obtidos pelo SVIS® a partir de dois lotes (A e B) de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® da classe P submetidas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (números de impactos) com teor de água de 11% e 20% (b.u.) e armazenadas durante dez meses. Barras da mesma cor e com mesma letra minúscula e barras de cores distintas, dentro de cada número de impactos, e com mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 19 – Imagens avaliadas por meio do SVIS® obtidas a partir de sementes milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, lote A, submetidas às injúrias mecânicas com teor de água (b.u.) de 20% (A, C e E: classes G, M e P, índices de vigor “Vigor Index” = 571, 457 e 326, respectivamente) e 11% (B, D e F: classes G, M e P, “Vigor Index” = 652, 575 e 381, respectivamente)

Figura 20 – Imagens avaliadas por meio do SVIS® obtidas a partir de sementes milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, lote B, submetidas às injúrias mecânicas com teor de água (b.u.) de 20% (A, C e E: classes G, M e P, índices de vigor “Vigor Index” = 670, 535 e 377, respectivamente) e 11% (B, D e F: classes G, M e P, “Vigor Index” = 760, 726 e 569, respectivamente)

Os resultados observados nesta pesquisa permitiram evidenciar que os níveis de injúrias mecânicas não afetaram negativamente o potencial fisiológico das sementes, possivelmente devido à baixa ocorrência de sementes com injúrias incidindo sobre o eixo embrionário, visto que as diferenças identificadas pelos testes foram contraditórias. Entretanto, no geral, os piores resultados foram obtidos para as sementes expostas às injúrias com teor de água de 20%, o que pode ter ocorrido devido à perda do potencial fisiológico em decorrência da hidratação e secagem das sementes.

A análise computadorizada de plântulas demonstrou ser uma importante ferramenta na avaliação do vigor das sementes, pois identificou diferenças entre tratamentos não observadas na primeira contagem de germinação e nos testes de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio. Para as classes G e M as diferenças entre os níveis de injúrias ocorreram principalmente dentro do lote A que possuía vigor mais baixo (índice de vigor de 500 a 650). As sementes da classe P apresentaram, no geral, vigor muito baixo (índice de vigor < 400) o que pode ter impossibilitado a expressão do efeito dos impactos e, conseqüentemente, a identificação de diferenças pelo SVIS®. Embora não tenham sido realizadas avaliações do potencial de desempenho das plântulas em campo, a utilização do SVIS® poderá fornecer importantes subsídios em futuros trabalhos que venham avaliar os efeitos de condições adversas do ambiente sobre o desenvolvimento das plântulas, com a vantagem de eliminar os erros de interpretação humana, quando realizados manualmente, permitindo a obtenção de valores mais precisos e comparáveis.

3.3 Conclusões

A exposição das sementes de milho doce às injúrias mecânicas não prejudica o potencial fisiológico.

O SVIS® é uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes de milho doce.

Referências

- ANDRADE, E.T.; CORRÊA, P.C.; ALVARENGA, E.M.; MARTINS J.H. Efeitos dos danos mecânicos sobre a qualidade fisiológica de sementes de feijão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 41-51, 1998.
- ANDRADE, E.T.; CORRÊA, P.C.; MARTINS, J.H.; ALVARENGA, E.M. Avaliação de dano mecânico em sementes de feijão por meio de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 3, n. 1, p. 54-60, 1999.
- ARAUJO, E.F.; GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V.; ARAUJO, R.F. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas à debulha, com diferentes graus de umidade. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 101-110, 2002.
- ARAUJO, E.F.; SILVA, R.F. da.; SILVA, J.S.; SEDIYAMA, C.S. Influência da debulha e do teor de umidade na germinação e no vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 113-122, 1986.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (AOSA). **Seed vigor testing handbook**. Springfield: AOSA, 1983. 88p. (Contribution, 32).
- BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; OLIVEIRA, A.C. Dualidade de sementes de milho debulhadas com diferentes teores de umidade e fluxos de alimentação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 9-12, 1995.
- BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; OLIVEIRA, A.C. Efeito da debulha mecânica na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 68-70, 1994.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 25, de 16 de dezembro de 2005. Dispõe sobre o estabelecimento de normas específicas e os padrões de identidade e qualidade para produção e comercialização de sementes de algodão, arroz, aveia, azevém, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo, trevo vermelho, trigo, trigo duro, triticale e feijão caupi. **Diário Oficial**, Brasília, 20 dez. 2005. Seção I, p. 18.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CHAVES, M.A.; MOREIRA, S.M.; ALVARENGA, L.C.; OLIVEIRA, L.M. Efeito de múltiplos impactos na germinação de três cultivares de sementes de soja. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 17, n. 1/2, p. 2-9, 1992.
- CHOWDHURY, M.H.; BUCHELE, W.F. Effects of the operating parameters of the rubber roller sheller. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 18, n. 3, p. 482-490, 1975.
- CICERO, C.M.; SILVA, W.R. Danos mecânicos associados a patógenos e desempenho de sementes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 305-314, 2003.

CICERO, S.M.; HEIJDEN, G.W.A.M.; BURG W.J. van der, BINO, R.J. Evaluation of mechanical damages in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 2, p. 603-612, 1998.

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

GOMES JUNIOR, F.G.; CHAMMA, H.M.C.P. Eficiência de um sistema computadorizado de processamento de imagens para avaliação do vigor de sementes de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2008. p. 685-688.

GOMES JUNIOR, F.G.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, Lansing, v. 31, n. 1, p. 95-100, 2009.

HALL, G.E.; JOHNSON, W.H. Corn kernel crackage induced by mechanical shelling. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 13, n. 1, p. 51-55, 1970.

HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. An automated system for vigour testing three-day-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University Seed Vigor Imaging System (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, Lansing, v. 27, n. 1, p. 7-26, 2005.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-149.

MARCOS FILHO, J.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.S.; GRASSBAUGH, E.M. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 34, n. 2, p. 507-519, 2006.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Testes de vigor**. Piracicaba: ESALQ, 1987. 53 p.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

NASCIMENTO, W.M.; PESSOA, H.B.S.V.; BOITEUX, L.S. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Londrina, v. 29, n. 8, p. 1211-1214, 1994.

NG, H.F.; WILCKE, W.F.; MOREY, R.V.; MERONUCK, R.A.; LANG, J.P. Mechanical damage and corn storability. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 41, n. 4, p. 1095-1100, 1998.

OLIVEIRA, M.E.C.; ALMEIDA, F.A.C.; OLIVEIRA, F.M.M.; BARROS NETO, J.J.S.; GOUVEIA, J.P.G. Danificações em sementes de milho decorrente da debulha e teor de umidade na colheita. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 1-12, 2005.

OTONI, R.R.; McDONALD, M.B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Technology**, Lansing, v. 27, n. 2, p. 243-247, 2005.

PETERSON, J.M.; PERDOMO, J.A.; BURRIS, J.S. Influence of kernel position, mechanical damage and controlled deterioration on estimates of hybrid maize seed quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 3, p. 647-657, 1995.

RAMOS, N.P.; MARCOS FILHO, J.; GALLI, J.A. Tratamento fungicida em semente de milho super-doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30, n. 1, p. 24-31, 2008.

ROSSETTO, C.A.V.; FERNANDEZ, E.M.; MARCOS FILHO, J. Metodologias de ajuste do grau de umidade e comportamento das sementes de soja no teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 17, n. 2, p. 171-178, 1995.

SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SHIEH, W. J.; McDONALD, M.B. The influence of seed size, shape and treatment on inbreed seed corn quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 10, n. 2, p. 307-313, 1982.

SILVA, N. Melhoramento de milho doce. In: Encontro sobre temas de genética e melhoramento, 11., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1994. v. 11, p. 45-49.

WILSON JUNIOR, D.O.; MOHAN, S.K.; RATCLIFF, S.L.; KNAPP, A.D. Effect of harvest and conditioning on vigor of shrunken-2 sweet corn seed. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 7, n. 3, p. 335-341, 1994.

WOLF, M.J.; BUZAN, C.L.; MacMASTERS, M.M.; RIST, C.E. Structure of the mature corn kernel. II. Microscopic structure of pericarp, seed coat, and hilar layer of dent corn. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 29, n. 5, p. 334-348, 1952.

4 UTILIZAÇÃO DA ANÁLISE DE IMAGENS PARA AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INJÚRIAS MECÂNICAS EM SEMENTES DE MILHO DOCE

Resumo

A análise de imagens tem sido utilizada na avaliação da ocorrência de injúrias mecânicas em sementes por ser um método preciso, rápido e não destrutivo. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência da análise de imagens na identificação de injúrias mecânicas em sementes de milho doce e sua relação com a germinação e o vigor. Sementes do híbrido 'SWB 551' (*sh2*) com formato esférico (E) e achatado (A) foram classificadas como grandes (G), médias (M1, M2 e M3) e pequenas (P) por meio de peneiras com perfurações circulares e oblongas. Assim, foram constituídas as classes EG [22 (8,73 mm)], EM1 [20 (7,94 mm)], EM2 [18 (7,14 mm)], EP [16 (6,35 mm)], AG [22 x $\frac{3}{4}$ (8,73 mm x 19,05 mm)], AM3 [20 x $\frac{3}{4}$ (7,94 mm x 19,05 mm)] e AP [16 x $\frac{3}{4}$ (6,35 mm x 19,05 mm)]. Sementes de todas as classes, com teor de água de 11% (b.u.), e sementes das classes AG, AM3 e AP, com teor de água de 20% (b.u.), após serem expostas a diferentes níveis de injúrias mecânicas (0, 1, 3, 5 e 7 impactos) utilizando o equipamento *BC Impact Simulator* (modelo 2000, Dow AgroSciences®) foram radiografadas (15 kV, 300 s) e submetidas a testes de germinação e de frio. As plântulas normais, as anormais e as sementes mortas provenientes dos testes de germinação e de frio foram fotografadas e analisadas paralelamente às respectivas imagens radiográficas das sementes. Os resultados mostraram que injúrias incidindo sobre o eixo embrionário resultaram no desenvolvimento de plântulas anormais ou na morte das sementes nos testes de germinação e de frio. Também, trincas da semente tanto longitudinais quanto transversais (com perda de quase 50% da sua integridade), resultaram na morte do embrião. Conclui-se que a análise de imagens é eficiente na identificação de injúrias mecânicas em sementes de milho doce, permitindo estabelecer as relações entre sua ocorrência e os prejuízos causados à germinação e ao vigor.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Raios X; Germinação; Vigor

ASSESSMENT OF MECHANICAL DAMAGE OCCURRENCE IN SWEET CORN SEEDS BY IMAGE ANALYSIS

Abstract

Image analysis has been used to evaluate mechanical damage in seeds as a precise, fast and non-destructive method. The objective of this research was to evaluate the efficiency of image analysis to identify mechanical damage in sweet corn seeds and its relationship with germination and vigor. Seeds from hybrid 'SWB 551' (*sh2*) of spherical (S) and flat (F) shapes were classified as large (L), medium (M1, M2 and M3) and small (S) through round and oblong screens. Thus, the classes SL [22 (8.73 mm)], SM1 [20 (7.94 mm)], SM2 [18 (7.14 mm)], SS [16 (6.35 mm)], FL [22 x $\frac{3}{4}$ (8.73 mm x 19.05 mm)], FM3 [20 x $\frac{3}{4}$ (7.94 mm x 19.05 mm)] and FS [16 x $\frac{3}{4}$ (6.35 mm x 19.05 mm)] were established. Seeds from all classes, presenting 11% of moisture content (w.b.), and seeds from FL, FM3 and FS classes, presenting 20% of moisture content

(w.b.), after subjected to different levels of mechanical damage (0, 1, 3, 5 and 7 impacts) using the *BC Impact Simulator* (model 2000, Dow AgroSciences®) equipment, were X-rayed (15 kV, 300 s) and submitted to germination and cold tests. Digital images of normal and abnormal seedlings and ungerminated seeds from germination and cold tests jointly were analyzed by X-ray. Results showed that damage affecting the embryonic axis resulted in the development of abnormal seedlings or ungerminated seeds in the germination and cold tests. Also, longitudinal as well as transverse seed fractures (losing almost 50% of seed physical integrity), resulted in embryo death. In conclusion, image analysis is efficient to identify mechanical damage in sweet corn seeds, allowing to establish a relationship between its occurrence and losses in germination and vigor.

Keywords: *Zea mays* L.; X-ray; Germination; Vigor

4.1 Introdução

O teste de raios X tem sido utilizado em pesquisas com sementes desde a década de 1950 quando Simak e Gustafsson (1953) demonstraram sua viabilidade para a avaliação da qualidade de sementes de *Pinus sylvestris* L. Assim, essa técnica foi empregada na orientação de trabalhos de melhoramento genético, possibilitando a detecção de anormalidades em embriões e a determinação do seu estágio de desenvolvimento (SIMAK, GUSTAFSSON, 1953), bem como no isolamento de embriões mutantes de *Arabidopsis thaliana* (BINO, AARTSE, van der BURG, 1993). Também, permitiu relacionar a anatomia de sementes com a germinação ou morfologia das plântulas (van der BURG et al., 1994; BATTISTI et al., 2000; MACHADO, 2002; OLIVEIRA, CARVALHO, DAVIDE, 2003; MONDO, CICERO, 2005), identificar injúrias por umidade (OBANDO FLOR et al., 2004) e por percevejo (OBANDO FLOR et al., 2004; PINTO et al., 2009) em sementes de soja e injúrias mecânicas em sementes (LEON et al., 1986; CICERO et al., 1998; CARVALHO et al., 1999; CICERO, BANZATTO JUNIOR, 2003; GIRARDIN, CHAVAGNAT, BOCKSTALLER, 2003; OBANDO FLOR et al., 2004; PINTO et al., 2009).

A ocorrência de injúrias mecânicas em sementes endospermáticas, como as de milho, tem sido frequentemente avaliada por meio dos testes de verde rápido (KELLER et al., 1972; CHOWDHURY, BUCHELE, 1975; BORBA et al., 1994; PETERSON, PERDOMO, BURRIS, 1995; MENEZES, LERSCHI JUNIOR, STORCK, 2002) e de

solução de amaranço (OLIVEIRA et al., 1998; BRANDAO JUNIOR et al., 1999; FESSEL et al., 2003) ou de iodo (NASCIMENTO, PESSOA, BOITEUX, 1994; OLIVEIRA et al., 1998; BRANDAO JUNIOR et al., 1999; CICERO, SILVA, 2003; MARCHI et al., 2006). Entretanto, estes métodos, além de serem destrutivos, não permitem evidenciar com precisão as injúrias diretamente relacionadas com as anormalidades nas plântulas ou com a morte dos embriões (CICERO et al., 1998; CICERO, BANZATTO JUNIOR, 2003). Isso ocorre porque além de não identificarem injúrias internas na semente, não consideram a extensão e a localização das injúrias localizadas externamente (CICERO et al., 1998).

Baseado no teste de tetrazólio, Chowdhury e Buchele (1975), identificaram injúrias internas na semente de milho o que possivelmente poderiam estar relacionadas com a morte do embrião. A elucidação desse assunto só foi possível a partir do trabalho desenvolvido por Cicero et al. (1998) que utilizaram a análise de imagens para identificar as injúrias internas e externas nas sementes e relacioná-las com a germinação. Os autores observaram que as rupturas presentes no endosperma, causando restrições na translocação de nutrientes para o eixo embrionário, ou as que ocorriam diretamente sobre o eixo embrionário, eram as que afetavam negativamente a germinação. De maneira similar, Carvalho et al. (1999) estudando as injúrias causadas por estresse em pré-colheita em sementes de milho, concluíram que as injúrias internas, detectadas por raios X, que ocorrem em posição perpendicular ao eixo embrionário, causam efeitos negativos sobre a germinação das sementes. Posteriormente, com o trabalho de Cicero e Banzatto Junior (2003) a eficiência dessa técnica também foi comprovada para relacionar a ocorrência de injúrias mecânicas com prejuízos ocasionados ao vigor de sementes de milho.

A análise de imagens tem sido considerada eficiente para avaliação de injúrias mecânicas em sementes, pois é um método preciso (as sementes podem ser examinadas individualmente em imagens ampliadas que poderão indicar, em detalhes, a área danificada, sua extensão e localização) e não destrutivo. Também, a baixa dose de radiação absorvida durante o teste de raios X não causa mutações genéticas na semente e não afeta a sua germinação (SIMAK, GUSTAFSSON, 1953; BINO, AARTSE, van der BURG, 1993). Assim, a semente submetida à análise pode ser colocada para

germinar e permitir o estabelecimento de relações entre a ocorrência das injúrias mecânicas e o prejuízo causado à germinação.

Deste modo, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência da análise de imagens na identificação de injúrias mecânicas em sementes de milho doce e sua relação com a germinação e o vigor.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Material e métodos

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Análise de Imagens e de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal (LPV) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP. Foram avaliadas sete classes de sementes de milho doce *shrunk-2* (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® provenientes de Jardinópolis, SP. As sementes com formato esférico (E) e achatado (A) foram classificadas como grandes (G), médias (M1, M2 e M3) e pequenas (P) por meio de peneiras com perfurações circulares e oblongas. Assim, foram constituídas as classes EG [22 (8,73 mm)], EM1 [20 (7,94 mm)], EM2 [18 (7,14 mm)], EP [16 (6,35 mm)], AG [22 x $\frac{3}{4}$ (8,73 mm x 19,05 mm)], AM3 [20 x $\frac{3}{4}$ (7,94 mm x 19,05 mm)] e AP [16 x $\frac{3}{4}$ (6,35 mm x 19,05 mm)]. A massa de mil sementes (13% b.u.) de cada classe era de 210,9 g, 189,1 g, 166,7 g, 142,2 g, 178,5 g, 154,2 g e 132,7 g, respectivamente.

As sementes foram submetidas às injúrias mecânicas de maneira controlada, utilizando o equipamento *BC Impact Simulator* (Modelo 2000, Dow AgroSciences®). Os tratamentos foram estabelecidos em função do número de impactos das sementes contra uma placa de aço inoxidável, sendo de 0, 1, 3, 5 e 7 lançamentos consecutivos. Para cada tratamento, as sementes de uma amostra de 700 g foram projetadas, por meio de um jato de ar comprimido a uma pressão de 965 KPa, contra a placa de aço posicionada a 10 cm da saída do jato. As sementes das sete classes, quando foram expostas às injúrias mecânicas, apresentavam teor de água de 11% (b.u.). As

sementes de formato achatado (AG, AM3 e AP) também foram submetidas aos impactos com teor de água de 20% (b.u.), sendo em seguida secadas (32°C) até 11% (b.u.). O ajuste do teor de água para 20% foi realizado segundo a metodologia da atmosfera controlada (ROSSETO, FERNANDEZ, MARCOS FILHO, 1995).

A análise de imagens foi utilizada na identificação das injúrias mecânicas nas sementes para relacioná-las com a viabilidade e o vigor. Dessa forma, após serem radiografadas, as sementes de cada tratamento foram submetidas a testes de germinação e de frio.

Para a identificação das injúrias mecânicas por meio dos raios X, foram avaliadas 500 sementes de cada classe EG, EM1, EM2 e EP para cada teste de germinação e de frio e 1000 sementes de cada classe AG, AM3 e AP, para cada teste de germinação e de frio, dentro de cada teor de água. Cinquenta sementes de cada vez foram dispostas em alvéolos individualizadas de uma placa acrílica, colocando-se por baixo uma fita adesiva transparente para fixar a semente em posição adequada; as sementes foram numeradas de acordo com a posição ocupada na placa, de maneira que pudessem ser identificadas nas determinações posteriores. A placa contendo as sementes foi posicionada diretamente sobre um filme radiográfico (Kodak MIN-R EV, tamanho de 18 cm x 24 cm), a uma distância de 35 cm da fonte de radiação. As imagens foram obtidas com intensidade de 15 kV e 300 s de exposição, utilizando-se equipamento FAXITRON X-Ray, modelo MX-20. A revelação foi efetuada numa processadora Hope X-Ray, modelo 319 Micromax. Posteriormente, as imagens dos filmes de raios X foram digitalizadas por meio do Scanner Umax, modelo PowerLook 1100, para ampliação e visualização em computador Core 2 Duo 6400 (2.13 GHz, 2GB de memória RAM, Hard Disk SATA II de 350 GB e monitor de 21 polegadas). Às injúrias mecânicas observadas nas imagens radiográficas das sementes foram atribuídas notas seguindo a classificação modificada de Cicero et al. (1998), apresentada na Tabela 17. Dessa forma, as possíveis notações foram 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 3.3, 3.1, 3.2 e 3.3, correspondendo o primeiro e o segundo número de cada notação, ao embrião e ao endosperma, respectivamente.

Tabela 17 – Critérios utilizados para a caracterização das notas em função das injúrias mecânicas observadas no embrião e no endosperma da semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® por meio das imagens de raios X

Nota	Embrião	Endosperma
1	Ausência de injúrias	Ausência de injúrias
2	Injúrias no escutelo em local diferente da região central (injúrias não severas)	Pequenas injúrias que não provoquem perda de parte do endosperma (injúrias não severas)
3	Injúrias na plúmula, no coleóptilo, na região central do escutelo, na radícula ou na região das raízes seminais (injúrias severas)	Injúrias resultantes na perda de parte do endosperma (injúrias severas)

Paralelamente ao teste de raios X, a plântula ou a semente morta oriunda de cada semente após os testes germinação e de frio, foram fotografadas por meio de uma câmera digital Nikon, modelo D1, acoplada a um computador Pentium 4 (3.0 GHz, 1 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB e monitor de 21 polegadas). As imagens radiográficas das sementes foram observadas paralelamente com as imagens fotográficas das plântulas ou das sementes mortas na tela do computador, por meio do software Adobe Photoshop, possibilitando um diagnóstico preciso das relações entre o local da ocorrência das injúrias mecânicas e a observação de plântulas normais, de plântulas anormais ou de sementes mortas (Figura 21).

A germinação foi avaliada utilizando-se como substrato o papel toalha umedecido com água numa proporção de massa de 2,5:1 (água: papel). As sementes, previamente numeradas (identificadas), foram distribuídas em grupos de cinco, sobre duas folhas de papel-toalha (no terço superior do substrato, para permitir o desenvolvimento das plântulas de maneira individualizada), cobertas com mais uma folha. Os rolos foram levados ao germinador à temperatura de 25°C e a avaliação foi realizada no quinto dia após a semeadura. As plântulas normais (cujas sementes apresentavam injúrias mecânicas), as plântulas anormais e as sementes mortas foram fotografadas.

No teste de frio foi utilizado o método do rolo de papel com terra. As sementes foram posicionadas sobre as folhas de papel toalha e identificadas de modo semelhante ao realizado no teste de germinação, porém a proporção entre água e papel foi de 2,7:1. Antes de ser confeccionado o rolo, as sementes foram cobertas com uma fina camada de terra proveniente de área recentemente cultivada com milho. Os rolos foram

colocados em caixas plásticas, vedadas, e mantidas em câmara fria (10°C) por sete dias. Depois de retirados das caixas os rolos foram transferidos para o germinador a 25°C por 5 dias e as plântulas normais, as anormais e as sementes mortas foram fotografadas.

Figura 21 – Esquema do processo de avaliação das injúrias mecânicas nas sementes milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® por meio da análise de imagens

Os dados provenientes da análise de imagens não foram analisados estatisticamente. O número de sementes caracterizadas dentro de cada nota para cada número de impactos e o total de plântulas normais, anormais e sementes mortas dentro de cada nota foram calculados em percentuais em relação à amostra de 500 ou 1000 sementes. As injúrias observadas nas imagens de raios X foram confrontadas com as imagens fotográficas das plântulas ou das sementes mortas provenientes dos testes de germinação e de frio.

4.2.2 Resultados e discussão

O percentual de sementes com injúrias internas variaram conforme o número de impactos, o tamanho e a forma da semente. Houve tendência do aumento do número de sementes injuriadas com o aumento do número de impactos, principalmente para aquelas que receberam nota 1.2 (Tabelas 18 a 23). Também, nos maiores níveis de injúrias mecânicas (5 e 7 impactos) foi observado o maior número de sementes com injúrias no embrião classificadas como severas. Apesar disso, também foram constatadas sementes que foram submetidas a apenas um impacto e apresentaram injúrias severas no embrião e sementes que foram submetidas a sete impactos e apresentaram injúrias de baixa severidade, localizadas exclusivamente no endosperma. Isto pode estar relacionado com a área da semente que foi atingida no momento do impacto, que segundo Carvalho e Nakagawa (2000), é um fator sobre o qual não se pode exercer nenhum controle.

Levando-se em consideração a média obtida entre as observações dos testes de germinação e de frio (Tabelas 18 e 19), 6,1% das sementes da classe EG apresentaram injúrias mecânicas, conforme se observa a partir da soma dos valores entre parênteses nas observações de PN, PA ou SM correspondentes às notas de 1.2 a 3.3. Já, para as classes EM1, EM2 e EP os percentuais médios de sementes com injúrias mecânicas foram menores em comparação com a classe EG, correspondendo a 3,9%, 4,8% e 3,1%, respectivamente (Tabelas 18 e 19).

Com relação às sementes de formato achatado (Tabelas 20 a 23), os percentuais de sementes com injúrias mecânicas foram maiores que os das sementes esféricas. A partir da soma dos valores entre parênteses nas observações de PN, PA ou SM correspondentes às notas de 1.2 a 3.3, para cada classe de semente, apresentadas nas Tabelas 20 e 21, em média obtida entre as observações dos testes de germinação e de frio, 9%, 8,1% e 9,7% das sementes das classes AG, AM3 e AP, respectivamente, apresentaram injúrias mecânicas quando submetidas a impactos com teor de água de 11% (semelhante ao teor de água das sementes esféricas quando foram expostas às injúrias mecânicas). Já, quando as sementes de formato achatado foram expostas às injúrias mecânicas com teor de água de 20% (Tabelas 22 e 23), o percentual médio de sementes injuriadas obtido entre as observações dos testes de

germinação e de frio, calculado a partir dos valores entre parênteses nas observações de PN, PA ou SM correspondentes às notas de 1.2 a 3.3 para as classes AG, AM3 e AP, foi de 8,3%, 8,2% e 10,6%, respectivamente.

Tabela 18 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos), que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e número de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 500 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® EG, EM1, EM2 e EP

(continua)

Nota	Número de Impactos ¹					Total	PN	Observação PA	SM
	0	1	3	5	7				
Classe EG									
1.1 ²	85	74	81	72	62	374	301(60,2)	69(13,8)	4(0,8)
1.2	-	1	2	4	8	15	7(1,4)	8(1,6)	-
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	-	-	2	-	2	1(0,2)	1(0,2)	-
2.2	-	-	-	5	4	9	6(1,2)	3(0,6)	-
2.3	-	1	-	-	-	1	-	1(0,2)	-
3.1	-	-	-	2	1	3	-	3(0,6)	-
3.2	-	-	-	-	1	1	-	1(0,2)	-
3.3	-	-	-	1	-	1	1(0,2)	-	-
NA ³	15	24	17	14	24	94	63(12,6)	31(6,2)	-
Classe EM1									
1.1	65	79	76	75	77	372	296(59,2)	76(15,2)	-
1.2	-	3	4	1	2	10	7(1,4)	3(0,6)	-
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	-	-	1	1	2	1(0,2)	1(0,2)	-
2.2	-	-	2	2	3	7	4(0,8)	3(0,6)	-
2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	-	1	-	1	2	-	1(0,2)	1(0,2)
3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NA	35	18	17	21	16	107	87(17,4)	19(3,8)	1(0,2)
Classe EM2									
1.1	75	72	74	81	69	371	314(62,8)	53(10,6)	4(0,8)
1.2	-	3	2	4	1	10	8(1,6)	2(0,4)	-
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	2	-	-	5	7	6(1,2)	1(0,2)	-
2.2	-	1	3	2	2	8	5(1,0)	3(0,6)	-
2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.1	-	-	1	-	-	1	-	1(0,2)	-
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NA	25	22	20	15	23	105	76(15,2)	27(5,4)	2(0,4)

Tabela 18 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos), que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e número de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 500 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® EG, EM1, EM2 e EP (conclusão)

Nota	Número de Impactos					Total	Observação		
	0	1	3	5	7		PN	PA	SM
Classe EP									
1.1	74	74	77	74	70	369	313(62,6)	52(10,4)	4(0,8)
1.2	-	1	-	2	2	5	4(0,8)	1(0,2)	-
1.3	-	-	-	-	1	1	1(0,2)	-	-
2.1	-	1	-	-	2	3	2(0,4)	1(0,2)	-
2.2	-	-	-	2	1	3	2(0,4)	1(0,2)	-
2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.1	-	2	-	-	-	2	1(0,2)	1(0,2)	-
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.3	-	-	-	-	1	1	-	1(0,2)	-
NA	26	22	23	22	23	116	76(15,2)	27(5,4)	2(0,4)

¹Veze em que as sementes com teor de água de 11% (b.u.) foram projetadas contra uma placa metálica a uma pressão de 965 KPa

²O primeiro número se refere ao embrião e o segundo ao endosperma. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de injúrias, injúrias não severas e injúrias severas

³NA: não avaliado devido ao formato irregular da semente

Ainda com relação às sementes de formato achatado, comparando os resultados apresentados nas Tabelas 20 e 21 com os das Tabelas 22 e 23 e analisando cada classe individualmente, observa-se que praticamente não houve variação no percentual de sementes injuriadas quando foram submetidas a impactos com teor de água de 11% e 20%. Entretanto, a classe AP apresentou maior percentual de sementes injuriadas em relação às sementes médias e grandes (AM3 e AG), principalmente quando o teor de água era de 20%.

Tabela 19 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos), que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e número de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 500 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® EG, EM1, EM2 e EP

(continua)

Nota	Número de Impactos ¹					Total	PN	Observação	SM
	0	1	3	5	7			PA	
Classe EG									
1.1 ²	75	77	67	66	70	355	243(48,6)	69(13,8)	43(8,6)
1.2	-	3	2	4	1	10	5(1,0)	5(1,0)	-
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	-	2	2	2	6	4(0,8)	-	2(0,4)
2.2	-	-	1	3	3	7	4(0,8)	2(0,4)	1(0,2)
2.3	-	-	1	1	-	2	-	-	2(0,4)
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	-	1	-	-	1	-	1(0,2)	-
3.3	-	2	-	1	-	3	-	2(0,4)	1(0,2)
NA ³	25	18	26	23	24	116	74(14,8)	34(6,8)	8(1,6)
Classe EM1									
1.1	76	65	73	70	71	355	252(50,4)	57(11,4)	46(9,2)
1.2	-	1	2	1	4	8	5(1,0)	3(0,6)	-
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	-	-	1	1	2	1(0,2)	1(0,2)	-
2.2	-	-	-	1	3	4	1(0,2)	3(0,6)	-
2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.1	-	-	-	-	1	1	-	1(0,2)	-
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.3	-	-	1	2	-	3	-	1(0,2)	2(0,4)
NA	24	34	24	25	20	127	98(19,6)	19(3,8)	10(2,0)
Classe EM2									
1.1	72	76	67	72	64	351	220(44,0)	60(12,0)	71(14,2)
1.2	-	1	4	3	4	12	4(0,8)	6(1,2)	2(0,4)
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	-	-	1	-	1	1(0,2)	-	-
2.2	-	-	2	2	1	5	2(0,4)	3(0,6)	-
2.3	-	1	-	-	-	1	1(0,2)	-	-
3.1	-	-	-	-	1	1	-	-	1(0,2)
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.3	-	1	1	-	-	2	-	1(0,2)	1(0,2)
NA	28	21	26	22	30	127	85(17,0)	17(3,4)	25(5,0)

Tabela 19 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos), que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e número de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 500 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® EG, EM1, EM2 e EP (conclusão)

Nota	Número de Impactos					Total	Observação		
	0	1	3	5	7		PN	PA	SM
Classe EP									
1.1	80	82	69	64	67	362	201(40,2)	74(14,8)	87(17,4)
1.2	-	-	2	2	2	6	4(0,8)	-	2(0,4)
1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.2	-	-	-	2	2	4	2(0,4)	2(0,4)	-
2.3	-	-	-	-	1	1	-	1(0,2)	-
3.1	-	-	1	1	-	2	-	-	2(0,4)
3.2	-	-	-	1	-	1	-	-	1(0,2)
3.3	-	-	-	-	1	1	-	1(0,2)	-
NA	20	18	28	30	27	123	73(14,6)	19(3,8)	31(6,2)

¹Veze em que as sementes com teor de água de 11% (b.u.) foram projetadas contra uma placa metálica a uma pressão de 965 KPa

²O primeiro número se refere ao embrião e o segundo ao endosperma. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de injúrias, injúrias não severas e injúrias severas

³NA: não avaliado devido ao formato irregular da semente

A maioria das injúrias observadas em sementes de formato esférico, independentemente do tamanho (EG, EM3 ou EP), foram classificadas como não severas no embrião e, ou endosperma, conforme se observa nas Tabelas 18 e 19 na coluna referente ao total de sementes que receberam notas 1.2 e 2.2. Entretanto, foi evidenciada baixa relação entre a ocorrência destas injúrias e o percentual de plântulas anormais e, ou sementes mortas nos testes de germinação e de frio. Na Tabela 18, por exemplo, para a classe EG, das 15 sementes que receberam nota 1.2, 8 originaram em plântulas anormais, correspondendo a apenas 1,6% do total das sementes avaliadas. De maneira similar, para a nota 2.2, do total de 9 sementes classificadas com este tipo de injúrias, apenas 3 resultaram em plântulas anormais, correspondendo a 0,6% do total das sementes avaliadas. Ressalta-se, entretanto, que para todas as classes de sementes foi observada alta ocorrência de plântulas anormais ou sementes mortas, principalmente no teste de frio a partir de sementes classificadas com nota 1.1 (injúrias ausentes no embrião e no endosperma). Na Tabela 19, por exemplo, para a classe EG, das 355 sementes que receberam nota 1.1, 69 e 43 resultaram em plântulas anormais

e sementes mortas, respectivamente, correspondendo, no total, a 22,4% das sementes avaliadas. Com base nestes resultados e considerando o baixo potencial fisiológico naturalmente observado em sementes de milho doce, pode-se inferir que os prejuízos decorrentes das injúrias mecânicas sobre o potencial fisiológico dessas sementes são pouco expressivos, visto que o percentual de sementes injuriadas que estiveram associadas com perda da viabilidade e do vigor foi baixo.

Alguns fatores contribuem para que injúrias mecânicas não ocorram em áreas consideradas vitais, como o eixo embrionário. Segundo Wolf et al. (1952), no milho o eixo embrionário representa menos que 2% da matéria seca da semente, ou seja, muito pouco em relação ao total. Além disso, esta importante estrutura que é responsável pelo surgimento de uma nova planta, encontra-se protegida por uma série de outras estruturas, que vai desde o escutelo, até as reservas endospermáticas, camada de aleurona, tegumento e pericarpo, além do coleóptilo e da coleoriza que protegem os meristemas da parte aérea e da raiz, respectivamente. Ainda, no caso da semente de milho doce, devido à morfologia externa irregular e a menor densidade em relação ao milho comum, a probabilidade das injúrias mecânicas atingirem o eixo embrionário tende a diminuir.

A morfologia externa irregular característica da semente de milho doce dificultou a identificação das injúrias mecânicas por meio teste de raios X nas sementes de formato esférico. Após serem radiografadas, algumas sementes que deram origem a plântulas anormais ou sementes mortas, não puderam ser analisadas de maneira que fossem identificadas as causas destas anormalidades. As imagens, na maioria das vezes, apareciam com áreas claras incidindo sobre a região do eixo embrionário, impossibilitando a sua plena visualização. Em média, 22,9% das sementes esféricas não foram analisadas, representadas, nas Tabelas 18 e 19, com a notação NA.

Tabela 20 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP

Nota	Número de Impactos ¹					Total	PN	Observação PA	SM
	0	1	3	5	7				
Classe AG									
1.1 ²	199	185	184	172	172	912	739(73,9)	171(17,1)	17(1,7)
1.2	1	3	7	12	11	34	14(1,4)	16(1,6)	4(0,4)
1.3	-	3	1	1	1	6	6(0,6)	-	-
2.1	-	-	1	1	1	3	1(0,1)	2(0,2)	-
2.2	-	5	-	1	6	12	3(0,3)	7(0,7)	2(0,2)
2.3	-	1	2	3	3	9	-	9(0,9)	-
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	3	3	2	2	10	2(0,2)	5(0,5)	3(0,3)
3.3	-	-	2	3	4	9	-	7(0,7)	2(0,2)
Classe AM3									
1.1	200	193	183	182	184	942	738(73,8)	193(19,3)	11(1,1)
1.2	-	2	7	8	8	25	16(1,6)	9(0,9)	-
1.3	-	1	2	3	2	8	6(0,6)	1(0,1)	1(0,1)
2.1	-	-	1	-	2	3	1(0,1)	2(0,2)	-
2.2	-	2	2	5	-	9	2(0,2)	6(0,6)	1(0,1)
2.3	-	1	-	-	1	2	1(0,1)	1(0,1)	-
3.1	-	-	-	-	1	1	-	1(0,1)	-
3.2	-	-	3	-	-	3	-	2(0,2)	1(0,1)
3.3	-	1	2	2	2	7	1(0,1)	3(0,3)	3(0,3)
Classe AP									
1.1	200	183	182	171	175	911	637(63,7)	245(24,5)	29(2,9)
1.2	-	4	6	5	7	22	7(0,7)	10(1,0)	5(0,5)
1.3	-	2	4	8	4	18	5(0,5)	6(0,6)	7(0,7)
2.1	-	-	1	1	-	2	-	2(0,2)	-
2.2	-	4	-	3	4	11	3(0,3)	7(0,7)	1(0,1)
2.3	-	3	2	8	5	18	4(0,4)	11(1,1)	3(0,3)
3.1	-	-	-	1	-	1	-	1(0,1)	-
3.2	-	1	1	2	-	4	2(0,2)	1(0,1)	1(0,1)
3.3	-	3	4	1	5	13	-	6(0,6)	7(0,7)

¹Vezeas em que as sementes com teor de água de 11% (b.u.) foram projetadas contra uma placa metálica a uma pressão de 965 KPa

²O primeiro número se refere ao embrião e o segundo ao endosperma. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de injúrias, injúrias não severas e injúrias severas

Tabela 21 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 11%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP

Nota	Número de Impactos ¹					Total	PN	Observação PA	SM
	0	1	3	5	7				
Classe AG									
1.1 ²	200	180	177	179	168	904	625(62,5)	196(19,6)	83(8,3)
1.2	-	4	9	3	7	23	8(0,8)	9(0,9)	6(0,6)
1.3	-	2	-	-	6	8	3(0,3)	5(0,5)	-
2.1	-	-	-	1	3	4	1(0,1)	3(0,3)	-
2.2	-	3	4	5	5	17	6(0,6)	7(0,7)	4(0,4)
2.3	-	2	2	2	3	9	-	5(0,5)	4(0,4)
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	5	3	5	1	14	1(0,1)	5(0,5)	8(0,8)
3.3	-	4	5	5	7	21	-	8(0,8)	13(1,3)
Classe AM3									
1.1	200	188	179	169	161	897	611(61,1)	195(19,5)	91(9,1)
1.2	-	7	6	7	10	30	12(1,2)	9(0,9)	9(0,9)
1.3	-	-	2	6	7	15	5(0,5)	8(0,8)	2(0,2)
2.1	-	1	-	-	-	1	-	1(0,1)	-
2.2	-	2	3	5	3	13	3(0,3)	5(0,5)	5(0,5)
2.3	-	1	3	3	5	12	2(0,2)	7(0,7)	3(0,3)
3.1	-	-	-	1	-	1	-	1(0,1)	-
3.2	-	1	3	4	4	12	-	6(0,6)	6(0,6)
3.3	-	1	4	5	10	20	-	10(1,0)	10(1,0)
Classe AP									
1.1	200	178	181	170	167	896	439(43,9)	285(28,5)	172(17,2)
1.2	-	5	5	6	3	19	6(0,6)	2(0,2)	11(1,1)
1.3	-	8	2	5	8	23	3(0,3)	3(0,3)	17(1,7)
2.1	-	-	-	1	-	1	-	1(0,1)	-
2.2	-	2	1	2	2	7	3(0,3)	1(0,1)	3(0,3)
2.3	-	2	3	6	11	22	-	6(0,6)	16(1,6)
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	1	3	-	1	5	-	1(0,1)	4(0,4)
3.3	-	4	6	10	8	28	-	6(0,6)	22(2,2)

¹Veze em que as sementes com teor de água de 11% (b.u.) foram projetadas contra uma placa metálica a uma pressão de 965 KPa

²O primeiro número se refere ao embrião e o segundo ao endosperma. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de injúrias, injúrias não severas e injúrias severas

Tabela 22 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 20%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de germinação, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP

Nota	Número de Impactos ¹					Total	PN	Observação PA	SM
	0	1	3	5	7				
Classe AG									
1.1 ²	200	186	183	181	176	926	670(67,0)	213(21,3)	43(4,3)
1.2	-	5	2	6	6	19	10(1,0)	4(0,4)	5(0,5)
1.3	-	1	2	1	-	4	3(0,3)	1(0,1)	-
2.1	-	-	1	3	1	5	2(0,2)	3(0,3)	-
2.2	-	2	1	-	1	4	2(0,2)	2(0,2)	-
2.3	-	1	5	2	4	12	6(0,6)	3(0,3)	3(0,3)
3.1	-	-	1	-	1	2	-	2(0,2)	-
3.2	-	1	4	5	6	16	3(0,3)	11(1,1)	2(0,2)
3.3	-	4	1	2	5	12	2(0,2)	2(0,2)	8(0,8)
Classe AM3									
1.1	200	190	185	179	182	936	663(66,3)	244(24,4)	29(2,9)
1.2	-	3	5	6	3	17	11(1,1)	4(0,4)	2(0,2)
1.3	-	-	-	2	2	4	3(0,3)	-	1(0,1)
2.1	-	-	-	-	1	1	1(0,1)	-	-
2.2	-	-	2	1	5	8	6(0,6)	-	2(0,2)
2.3	-	2	2	5	3	12	5(0,5)	5(0,5)	2(0,2)
3.1	-	1	-	-	-	1	-	1(0,1)	-
3.2	-	3	2	4	4	13	-	5(0,5)	8(0,8)
3.3	-	1	4	3	-	8	-	5(0,5)	3(0,3)
Classe AP									
1.1	200	177	181	174	169	901	556(55,6)	244(24,4)	101(10,1)
1.2	-	6	5	5	4	20	3(0,3)	9(0,9)	8(0,8)
1.3	-	6	6	7	7	26	10(1,0)	5(0,5)	11(1,1)
2.1	-	1	1	1	1	4	-	4(0,4)	-
2.2	-	1	-	-	4	5	-	4(0,4)	1(0,1)
2.3	-	5	4	5	8	22	11(1,1)	10(1,0)	1(0,1)
3.1	-	1	-	-	-	1	-	1(0,1)	-
3.2	-	1	2	2	-	5	-	4(0,4)	1(0,1)
3.3	-	2	1	6	7	16	1(0,1)	7(0,7)	8(0,8)

¹Vezeas em que as sementes com teor de água de 11% (b.u.) foram projetadas contra uma placa metálica a uma pressão de 965 KPa

²O primeiro número se refere ao embrião e o segundo ao endosperma. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de injúrias, injúrias não severas e injúrias severas

Tabela 23 – Número de sementes avaliadas por meio do teste de raios X, dentro de cada nível de injúrias mecânicas (número de impactos) com teor de água de 20%, que receberam notas baseadas na presença ou ausência de injúrias no eixo embrionário e, ou endosperma e total de sementes, dentro de cada nota, que originaram plântula normal (PN), plântula anormal (PA) e semente morta (SM) após o teste de frio, com seu respectivo percentual de ocorrência (valor entre parênteses) em relação à amostra de 1000 sementes para cada classe de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® AG, AM3 e AP

Nota	Número de Impactos ¹					Total	PN	Observação PA	SM
	0	1	3	5	7				
Classe AG									
1.1 ²	200	183	182	172	172	909	532(53,2)	267(26,7)	110(11,0)
1.2	-	1	2	3	12	18	8(0,8)	3(0,3)	7(0,7)
1.3	-	2	1	3	1	7	3(0,3)	4(0,4)	-
2.1	-	-	-	1	-	1	1(0,1)	-	-
2.2	-	3	3	3	3	12	3(0,3)	6(0,6)	3(0,3)
2.3	-	3	3	1	2	9	2(0,2)	4(0,4)	3(0,3)
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	6	3	6	4	19	2(0,2)	5(0,5)	12(1,2)
3.3	-	2	6	11	6	25	2(0,2)	9(0,9)	14(1,4)
Classe AM3									
1.1	200	180	182	169	170	901	546(54,6)	251(25,1)	104(10,4)
1.2	-	6	3	4	7	20	9(0,9)	8(0,8)	3(0,3)
1.3	-	3	4	4	4	15	6(0,6)	6(0,6)	3(0,3)
2.1	-	-	1	-	-	1	1(0,1)	-	-
2.2	-	3	3	7	4	17	3(0,3)	7(0,7)	7(0,7)
2.3	-	3	3	8	7	21	5(0,5)	7(0,7)	9(0,9)
3.1	-	-	1	-	-	1	-	-	1(0,1)
3.2	-	1	-	3	4	8	1(0,1)	4(0,4)	3(0,3)
3.3	-	4	3	5	4	16	-	2(0,2)	14(1,4)
Classe AP									
1.1	200	180	178	168	162	888	389(38,9)	267(26,7)	232(23,2)
1.2	-	4	3	7	6	20	10(1,0)	2(0,2)	8(0,8)
1.3	-	6	5	5	8	24	1(0,1)	5(0,5)	18(1,8)
2.1	-	-	1	-	-	1	-	1(0,1)	-
2.2	-	-	3	2	4	9	-	1(0,1)	8(0,8)
2.3	-	4	4	11	10	29	3(0,3)	8(0,8)	18(1,8)
3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	3	1	2	1	7	-	1(0,1)	6(0,6)
3.3	-	3	5	5	9	22	1(0,1)	4(0,4)	17(1,7)

¹Veze em que as sementes com teor de água de 11% (b.u.) foram projetadas contra uma placa metálica a uma pressão de 965 KPa

²O primeiro número se refere ao embrião e o segundo ao endosperma. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de injúrias, injúrias não severas e injúrias severas

A forma da semente é um dos fatores que pode determinar variações na ocorrência de injúrias mecânicas em suas diferentes partes. Nas sementes de formato esférico, as injúrias ocorreram principalmente no endosperma, sendo baixo o percentual de sementes com injúrias classificadas como severas no embrião. Porém, entre as sementes de formato achatado, foi observada ocorrência de injúrias em

diferentes áreas da semente, embora tenha predominado em algumas regiões específicas e sido observado algumas variações entre o tamanho da semente (Tabelas 20 a 23). Para as classes AG e AM3, a maioria das sementes recebeu nota 1.2, enquanto que, para a classe CP, além das injúrias classificadas com esta nota, foi observado também aumento da ocorrência de injúrias severas no endosperma (nota 1.3). A ocorrência de sementes com injúrias classificadas com notas 2.3, 3.2 e 3.3, pouco constatada nas sementes esféricas, foi alta entre as sementes achatadas. As sementes que foram caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião (notas 3.1, 3.2 e 3.3) resultaram, na maioria das vezes, em plântulas anormais ou em sementes mortas. Quando originaram plântulas normais, a análise detalhada da imagem radiográfica da semente injuriada paralelamente com a fotografia da plântula permitiu esclarecer tais evidências.

Entre as sementes de formato achatado, a ocorrência de plântulas anormais e de sementes mortas oriundas de sementes que apresentavam injúrias mecânicas foi mais alta no teste de frio em comparação com o teste de germinação. A partir da soma dos valores entre parênteses das observações de PA e SM correspondentes às notas de 1.2 a 3.3 apresentadas nas Tabelas 20 e 22, são obtidos os percentuais médios de 5,2%, 3,5% e 7,1% para as classes AG, AM3 e AP, respectivamente. Esses valores indicam o percentual de sementes que apresentavam injúrias mecânicas e que resultaram em plântulas anormais e em sementes mortas no teste de germinação. Entretanto, o mesmo cálculo realizado para os dados de germinação, porém referente o teste de frio, a partir dos dados apresentados nas Tabelas 21 e 23, resultou em percentuais médios de 7,4%, 7,8%, 9,5% para as classes AG, AM3 e AP, respectivamente. Estes resultados evidenciam maior aumento no percentual de plântulas anormais e de sementes mortas no teste de frio em relação ao teste de germinação, principalmente para as sementes da classe AM3.

Entretanto, assim como evidenciado para as sementes esféricas, foi alto o percentual de plântulas anormais e de sementes mortas oriundas de sementes achatadas que não apresentavam injúrias mecânicas (nota 1.1), principalmente no teste de frio. No teste de germinação, a partir da soma dos valores entre parênteses das observações de PA e SM correspondentes à nota de 1.1 apresentadas nas

Tabelas 20 e 22, em média, 25,6%, 27,3% e 34,5% do total de 1000 sementes analisadas, respectivamente, para as classes AG, AM3 e AP, resultaram em plântulas anormais e em sementes mortas. Já, no teste de frio os percentuais obtidos a partir dos valores apresentados nas Tabelas 21 e 23 para estas classes de sementes foram maiores em relação ao teste de germinação, 37,7%, 35,5% e 49,9%, respectivamente. Esses resultados indicam que nem todas as plântulas anormais ou sementes mortas observadas a partir de sementes expostas às injúrias mecânicas sejam, efetivamente, em consequência das injúrias visíveis.

Há de se considerar também o efeito latente das injúrias mecânicas, que pode ocorrer a partir de lesões nos tecidos da semente não identificadas pelo teste de raios X. Entretanto, a confirmação dos efeitos imediatos e o estabelecimento de suas relações com a germinação e o vigor pode ser realizada comparando a imagem de raios X de cada semente injuriada com a sua respectiva plântula normal, anormal ou semente morta resultante. Essa análise individualizada possibilitou quantificar as sementes que apresentaram o mesmo tipo de injúria, no que se refere à sua localização. Na Tabela 24 estão contidos os principais tipos de injúrias observadas de um total de 12.800 sementes avaliadas, envolvendo as sete classes de sementes contempladas nesta pesquisa. Por exemplo, sementes que, pelo teste de raios X receberam nota 3.2 foram caracterizadas por trincas longitudinais através do eixo embrionário; trincas em toda a semente atingindo o embrião e o endosperma; dano na região da radícula (causando perda total ou de parte dela), atingindo também o endosperma; ou trinca diagonal através do endosperma e incidindo sobre a plúmula.

Entre as sementes analisadas, aquelas que apresentaram injúrias mecânicas caracterizadas como não severas no embrião e severas no endosperma, representadas pela perda ou ruptura de parte do endosperma, foram as de maior ocorrência, 0,98% (Tabela 24).

Tabela 24 – Descrição e percentual de ocorrência dos principais tipos de injúrias observadas em sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences® avaliadas por meio do teste de raios X

Descrição das injúrias	Ocorrência ¹	Exemplo
Perda ou ruptura de parte do endosperma, sem atingir o eixo embrionário e injúrias no escutelo exceto na região central (nota 2.3)	0,98%	Figura 22
Perda de parte do endosperma, sem atingir o embrião (nota 1.3)	0,73%	Figura 23
Trincas longitudinais através do eixo embrionário (nota 3.2)	0,40%	Figuras 29, 30 e 31
Trincas em toda a semente atingindo o embrião e o endosperma (notas 3.2 e 3.3)	0,33%	Figura 32
Trincas apenas no endosperma, sem atingir o escutelo (nota 1.2)	0,30%	Figura 24
Semente partida longitudinalmente – perda de quase 50% da sua integridade (nota 3.3)	0,30%	Figura 33
Perda total ou de parte da radícula, atingindo ou não a base do escutelo ou endosperma (notas 3.1, 3.2 e 3.3)	0,26%	Figura 26
Semente partida transversalmente ao meio (sem a parte da plúmula ou da radícula) – perda de quase 50% da sua integridade (nota 3.3)	0,24%	Figura 33
Trincas no endosperma, atingindo o escutelo, porém sem incidir sobre o eixo embrionário (nota 2.2)	0,17%	Figura 25
Trinca diagonal através do endosperma e incidindo sobre a plúmula (nota 3.2)	0,09%	Figura 27
Trinca transversal na plúmula sem atingir o escutelo e o endosperma (nota 3.1)	0,05%	Figura 28

¹ Percentual em relação ao total de 12.800 sementes expostas às injúrias mecânicas

Na Figura 22a observa-se que ao atingirem o endosperma e o escutelo, as injúrias mecânicas prejudicaram a viabilidade da semente. Observa-se a ocorrência de uma trinca longitudinal, indicada pelas setas, cujo efeito foi o desenvolvimento incipiente da plúmula. A seta na Figura 22b indica que o limite alcançado pela plúmula foi menor que a metade do tamanho do coleóptilo. A ruptura de quase a metade do tecido endospermático refletiu na escassez de reservas para o crescimento do embrião, resultando no desenvolvimento de plântula anormal. Nesta pesquisa também foram observados que outras sementes que apresentaram ruptura ou até mesmo a perda de 30 a 40% do endosperma (análise visual), geralmente resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas. Quando originaram plântulas normais, estas apresentaram menor tamanho em relação às oriundas de sementes intactas ou com injúrias não severas restritas no endosperma. No teste de frio apenas 19,4% das sementes que apresentaram este tipo de injúria originaram plântulas normais. As anormalidades se manifestaram principalmente devido ao reduzido crescimento da raiz, desproporcional em relação à parte aérea.

Entretanto, quando as injúrias mecânicas incidiram sobre o endosperma, mas não foram suficientemente severas a ponto de atingir o escutelo da semente, não foram observados prejuízos à germinação e o vigor. Na Figura 23 observa-se que quando as injúrias foram caracterizadas com a perda de apenas parte do endosperma da semente (setas), o resultado foi o desenvolvimento de plântula normal no teste de germinação e de frio.

Quando as injúrias mecânicas foram caracterizadas como pouco severas tanto no endosperma quanto no embrião (notas 1.2, 2.2) o seu efeito negativo sobre o potencial fisiológico da semente foi baixo. As Figuras 24 e 25 representam as principais ocorrências de sementes com esse tipo de injúrias. Observa-se que o eixo embrionário das sementes permaneceu intacto e as trincas ocorridas no endosperma e, ou escutelo (área circulada e seta) não prejudicou a germinação e o vigor. Por outro lado, quando as injúrias ocorreram no eixo embrionário os efeitos prejudiciais sobre o potencial fisiológico se intensificaram. As Figuras 26 a 33 representam as principais ocorrências de sementes com injúrias mecânicas no eixo embrionário e que receberam notas 3.1, 3.2 ou 3.3.

Figura 22 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada três vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas não severas no embrião e severas no endosperma (nota 2.3), originando plântula anormal (b) no teste de germinação

Figura 23 – Imagem radiográfica de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AP, arremessadas cinco vezes (a) e uma vez (c) contra a placa metálica, caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas ausentes no embrião e severas no endosperma (nota 1.3), originando plântula normal nos testes de germinação (b) e de frio (d)

Figura 24 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada sete vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas ausentes no embrião e não severas no endosperma (nota 1.2), originando plântula normal (b) no teste de frio

Figura 25 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada uma vez contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas não severas no embrião e no endosperma (nota 2.2), originando plântula normal (b) no teste de germinação

A Figura 26 exemplifica as injúrias que atingiram severamente o eixo embrionário na região da radícula (nota 3.1). Observa-se que houve completa ruptura e perda da radícula, resultando no desenvolvimento de plântula anormal, sem a raiz primária. As injúrias não incidiram sobre a região das raízes seminais (área circulada), justificando o crescimento de uma raiz seminal, porém rudimentar.

Figura 26 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessada uma vez contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e ausentes no endosperma (nota 3.1), originando plântula anormal (b) no teste de germinação

Quando as injúrias atingiram o eixo embrionário, exclusivamente na região da plúmula, o desenvolvimento da parte aérea foi precário ou ausente. Observa-se na Figura 27 que a trinca incidindo na plúmula, diagonalmente, provocou o desenvolvimento de plântula anormal no teste de germinação. Foi constatado crescimento incipiente da plúmula (seta), de maneira similar ao observado na Figura 22b. Entretanto, quando as injúrias foram caracterizadas pelo seccionamento transversal da plúmula, não houve desenvolvimento da parte aérea. As setas na Figura 28 indicam que as injúrias incidiram apenas na base da plúmula. Essas injúrias, aparentemente insignificantes e de impossível detecção pela avaliação externa, foram determinantes no desenvolvimento de plântula anormal nos testes de germinação e de frio. Observa-se ainda vigoroso desenvolvimento do sistema radicular das plântulas (Figura 28), indicando que a transferência de reservas do endosperma para o meristema apical da raiz ocorreu normalmente, visto que não ocorreram injúrias em outra parte da semente a não ser na plúmula.

Essas evidências confirmam resultados de pesquisa com sementes de milho, que relacionaram a ocorrência de injúrias mecânicas em posição perpendicular ao eixo embrionário, com prejuízos sobre a germinação (CICERO et al., 1998; CARVALHO et al., 1999) e sobre o vigor (CICERO, BANZATTO JUNIOR, 2003) das sementes.

Figura 27 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessada três vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando plântula anormal (b) no teste de germinação

Figura 28 – Imagem radiográfica de sementes de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessadas sete vezes contra a placa metálica (a, c), caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e ausentes no endosperma (nota 3.1), originando plântulas anormais nos testes de germinação (b) e de frio (d)

Analisando a fotografia externa da parte ventral da semente da Figura 29a, observa-se que as injúrias mecânicas incidiram longitudinalmente na semente causando uma trinca desde o ápice até a sua base (região do hilo). A partir da imagem de raios X (Figura 29b), foi possível compreender a razão do desenvolvimento vigoroso do sistema radicular da plântula, porém irregular da parte aérea. Considerando a trajetória da injúria a partir do ápice da semente, observa-se que, ao atravessar o endosperma e o escutelo, a trinca atingiu a plúmula (seta) em toda a sua extensão, atravessou a região das raízes seminais, porém não incidiu sobre a radícula. Observa-

se que as injúrias passaram pela cavidade entre a radícula e a coleorriza, porém não atingiram a radícula, atravessando, finalmente, a parte basal do escutelo. Consequentemente, o resultado foi o desenvolvimento de plântula anormal no teste de germinação (Figura 29c), evidenciado pelo fendilhamento do coleóptilo (seta) e desenvolvimento incipiente da parte aérea, porém com vigoroso desenvolvimento do sistema radicular.

Na Figura 30 tem-se uma semente com injúrias mecânicas semelhantes às da semente apresentada na Figura 29. O resultado também foi o desenvolvimento de plântula anormal (ausência de parte aérea) no teste de frio. Observa-se, entretanto, que embora as injúrias não tenham atingido a radícula, o crescimento da raiz foi deficiente. Quando as injúrias incidiram sobre a plúmula e a radícula, o efeito foi a morte do embrião da semente (Figura 31). Esses resultados concordam com os observados por Cicero et al. (1998) e Cicero e Banzatto Junior (2003) em sementes de milho. Os autores constataram que quando as injúrias atingiram longitudinalmente o eixo embrionário resultaram na morte do embrião da semente ou no desenvolvimento de plântula anormal.

Figura 29 – Semente de milho doce (*sh2*) 'SWB 551' Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada uma vez contra a placa metálica apresentando, externamente, injúrias mecânicas no pericarpo (a) e por meio do teste de raios X, injúrias mecânicas severas no eixo embrionário e não severas no endosperma (nota 3.2) (b), originando plântula anormal (c) no teste de germinação

Figura 30 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada três vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando plântula anormal (b) no teste de frio

Figura 31 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada cinco vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando semente morta (b) no teste de frio

Na Figura 32 observa-se que as injúrias mecânicas atingiram as regiões do endosperma, do escutelo e da plúmula da semente. Embora a região da radícula tenha permanecido intacta, não houve desenvolvimento da raiz. Durante o processo de germinação, a translocação das reservas do endosperma da semente é no sentido descendente da região apical em direção à região do nó cotiledonar, de onde são

distribuídas para os meristemas apicais da radícula e da plúmula e utilizadas para a continuidade do crescimento do embrião. Analisando a disposição com que as injúrias ocorreram, infere-se que praticamente não houve distribuição de nutrientes para o crescimento da raiz, visto que a sua translocação até a região do nó cotiledonar foi interrompida, resultando, conseqüentemente, na morte do embrião. Cicero et al (1998) e Cicero e Banzatto Junior (2003) também constataram que rupturas que causaram restrição da translocação de nutrientes para o eixo embrionário causaram a morte do embrião da semente de milho, ou resultaram em plântula anormal.

Figura 32 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada sete vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando dano mecânico severo no embrião e não severo no endosperma (nota 3.2), originando semente morta (b) no teste de frio

Na Figura 33 são apresentadas imagens de sementes com injúrias mecânicas que causaram perda de quase 50% de sua integridade e resultaram em sementes mortas. Observa-se que em ambas as situações apresentadas (Figura 33a e 33c) as injúrias atingiram o eixo embrionário. No caso da semente com quebra no sentido perpendicular ao eixo embrionário (Figura 33c), embora as injúrias não tenham atingido a radícula, não houve desenvolvimento da raiz. Ainda, observa-se que houve perda expressiva de parte do endosperma, cujas reservas seriam a fonte de energia para o crescimento da raiz. Também, analisando a imagem fotográfica dessa semente morta (Figura 33d), observa-se que a plúmula não foi danificada (área circulada) como

parecia ter ocorrido pela imagem radiográfica (Figura 33c). A análise cuidadosa da imagem de raios X na região da plúmula (área circulada) permitiu observar uma área translúcida delimitada pelo formato côncavo do coleóptilo. Todas as sementes com injúrias mecânicas exemplificadas pela Figura 33 originaram sementes mortas ou plântulas anormais. As anormalidades normalmente foram caracterizadas pelo desenvolvimento deficiente das raízes e normal da parte aérea, no caso de injúrias semelhantes às da semente da Figura 33a, ou desenvolvimento normal das raízes e ausência da parte aérea, no caso de injúrias semelhantes às da semente da Figura 33c.

Figura 33 – Imagem radiográfica de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AM3, arremessadas cinco (a) e três (c) vezes contra a placa metálica, caracterizadas como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e no endosperma (nota 3.3), originando semente morta nos testes de germinação (b) e de frio (d)

Algumas sementes que a partir de análise visual seriam consideradas inviáveis, surpreendentemente, resultaram em plântulas normais. Por outro lado, em algumas situações sementes que aparentemente originariam plântulas normais, resultaram em plântulas anormais. A análise das imagens de raios X paralelamente com as imagens fotográficas das plântulas foi decisiva para explicar a razão de determinadas sementes que receberam nota 3.2 ou 3.3, originarem plântulas normais, conforme pode ser constatado nos valores entre parênteses das observações de PN correspondentes às notas 3.2 e 3.3 nas Tabelas 18, 20, 21, 22 e 23. Por exemplo, na Tabela 20, duas de um total de dez sementes da classe AG que apresentaram injúrias mecânicas classificadas como severas no eixo embrionário e não severas no endosperma (nota 3.2), originaram em plântulas normais no teste de germinação. Porém, na Figura 34,

por exemplo, tem-se uma plântula anormal oriunda de uma semente que aparentemente originaria uma plântula normal. A imagem radiográfica mostra que o eixo embrionário da semente não foi atingido (Figura 34a), mas mesmo assim o resultado foi o desenvolvimento de plântula anormal (Figura 34b). Neste caso, o desenvolvimento incipiente da plântula pode ter ocorrido devido à perda de grande parte do endosperma da semente, restando baixa quantidade de reservas para o crescimento do embrião. No exemplo representado na Figura 35, a coleorriza protegeu a radícula da semente (de modo análogo ao constatado na semente da Figura 33c, onde a plúmula foi protegida pelo coleóptilo), originando uma plântula normal, com vigoroso desenvolvimento do sistema radicular. A análise pormenorizada da imagem de raios X (área circulada) evidencia a existência da coleorriza contendo a radícula.

Figura 34 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AP, arremessada cinco vezes contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas não severas no embrião e severas no endosperma (nota 2.3), originando plântula anormal (b) no teste de germinação

Figura 35 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe AG, arremessada uma vez contra a placa metálica (a), caracterizada como apresentando injúrias mecânicas severas no embrião e não severas no endosperma (nota 3.2), originando plântula normal (b) no teste de frio

Em algumas situações, o teste de raios X não possibilitou relacionar, de maneira consistente, o aparecimento de anormalidade de plântulas com possíveis injúrias mecânicas ocorridas nas sementes, conforme exemplificado pela semente da Figura 36. Observa-se que a semente originou uma plântula anormal no teste de germinação (ausência da parte aérea) com a suspeita de ter ocorrido trinca na base da plúmula, de maneira similar ao observado nas imagens das sementes da Figura 28. As manchas claras na imagem de raios X, decorrentes da morfologia externa da semente, coincidiram com a região que supostamente teria sido danificada, impossibilitando o diagnóstico preciso da causa da anormalidade. Essas dificuldades foram encontradas apenas na avaliação de sementes esféricas, que se intensificaram com a diminuição do tamanho da semente, conforme pode ser observado nas imagens da Figura 37.

Figura 36 – Imagem radiográfica de semente de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences®, classe EG, arremessada cinco vezes contra a placa metálica (a), com suspeita de ter apresentando injúrias mecânicas severas no embrião, originando plântula anormal (b) no teste de germinação

Figura 37 – Imagens radiográficas de sementes de milho doce (*sh2*) ‘SWB 551’ Dow AgroSciences® de formato esférico, classes EG (a), EM1 (b), EM2 (c) e EP (d). A morfologia externa peculiar deste tipo de semente dificultou a análise das imagens de raios X. Observa-se que devido às curvaturas do pericarpo da semente, aparecem áreas claras nas imagens, dificultando a visualização do eixo embrionário

A análise de imagens demonstrou ser uma ferramenta importante para a avaliação da ocorrência de injúrias mecânicas em sementes de milho doce, porém sua aplicabilidade se restringiu às sementes de formato achatado. Assim, foi possível estabelecer as relações entre a severidade das injúrias mecânicas e seus efeitos sobre o potencial fisiológico das sementes. Ficou evidente que injúrias mecânicas, caracterizadas por trincas no endosperma e, ou escutelo, porém sem atingir o eixo embrionário, não prejudicaram o potencial fisiológico da semente. Entretanto, quando as injúrias incidiram sobre o eixo embrionário o resultado foi o desenvolvimento de plântulas anormais ou a morte das sementes nos testes de germinação e de frio.

Também, trincas da semente tanto longitudinais quanto transversais (com perda de quase 50% da sua integridade), resultaram na morte do embrião.

4.3 Conclusão

A análise de imagens é eficiente na identificação de injúrias mecânicas em sementes de milho doce, permitindo estabelecer as relações entre sua ocorrência e os prejuízos causados à germinação e ao vigor.

Referências

- BATTIST, A.; CANTINI, R.; FECI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non-destructive X-ray analysis of *Arabidopsis* embryo mutants. **Seed Science Research**, New York, v. 3, n. 3, p.167-170, 1993.
- BORBA, C.S.; ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; OLIVEIRA, A.C. Efeito da debulha mecânica na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 68-70, 1994.
- BRANDÃO JUNIOR, D.S.; DINIZ, A.R.; CARVALHO, M.L.M.; VIEIRA, M.G.G.C.; OLIVEIRA, M.S.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação de danos mecânicos e seus efeitos na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 53-58, 1999.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CARVALHO, M.L.M.; VAN AELST, A.C.; VAN ECK, J.W.; HOEKSTRA, F.A. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, New York, v. 9, n. 3, p. 227-236, 1999.
- CHOWDHURY, M.H.; BUCHELE W.F. Effects of the operating parameters of the rubber roller sheller. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 18, n. 3, p. 482-490, 1975.

CICERO, C.M.; SILVA, W.R. Danos mecânicos associados a patógenos e desempenho de sementes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 305-314, 2003.

CICERO, 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**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2003.

CICERO, S.M.; HEIJDEN, G.W.A.M. van der; BURG W.J. van der; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damages in seeds of maize (*Zea mays* L). by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 3, p. 603-612, 1998.

FESSEL, S.A.; SADER, R.; PAULA, R.C. de.; GALLI, J.A. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 70-76, 2003.

GIRARDIN, P.; CHAVAGNAT, A.; BOCKSTALLER, C. Détermination des caractéristiques des semences de maïs grace à la radiographie aux rayons X. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 21, n. 3, p. 545-551, 1993.

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

LEON, G.G.; AGUIRRE, A.J.; CARVALHO, O.L.M.; IRIGON, D.L.; GODOY, A.F. Utilização de filmes radiográfico, pancromático e infravermelho na avaliação de danos em sementes. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 16, p. 303-318, 1986.

MACHADO, C.F. **Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.)**. 2002. 51 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MARCHI, J.L.; MENTEN, J.O.M.; MORAES, M.H.D.; CICERO, S.M. Relação entre danos mecânicos, tratamento fungicida e incidência de patógenos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 3, p. 314-321, 2006.

MENEZES, N.L.; LERSCHI JUNIOR, I; STORCK, L. Qualidade física e fisiológica das sementes de milho após o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 97-102, 2002.

MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2005.

NASCIMENTO, W.M.; PESSOA, H.B.S.V.; BOITEUX, L.S. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Londrina, v. 29, n. 8, p. 1211-1214, 1994.

OBANDO FLOR, E.P.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 68-76, 2004.

OLIVEIRA, J.A.; CARVALHO, M.L.M.C.; VIEIRA, M.G.G.C.; SILVA, E.A.A. Utilização de corantes na verificação de incidência de danos mecânicos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 125-128, 1998.

OLIVEIRA, L.M. de; CARVALHO, M.L.M. de; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

PETERSON, J.M.; PERDOMO, J.A.; BURRIS, J.S. Influence of kernel position, mechanical damage and controlled deterioration on estimates of hybrid maize seed quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 23, n. 3, p. 647-657, 1995.

PINTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; FORTI, V.A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean seed using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 37, n. 1, p. 110-120, 2009.

ROSSETTO, C.A.V; FERNANDEZ, E.M.; MARCOS FILHO, J. Metodologias de ajuste do grau de umidade e comportamento das sementes de soja no teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 17, n. 2, p. 171-178, 1995.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Lund, v. 39, p. 458-468, 1953.

BURG, W.J. van der; AARTSE, J.W.; VAN ZWOL, R.A.; JALINK, H.; BINO, F.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 119, n. 3, p. 258-263, 1994.

WOLF, M.J.; BUZAN, C.L.; MacMASTERS, M.M.; RIST, C.E. Structure of the mature corn kernel. I. Gross anatomy and structural relationships. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 29, n. 5, p. 321-333, 1952.