**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE
MILHO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ENVELHECIMENTO
ACELERADO E SUAS RELAÇÕES COM O ARMAZENAMENTO**

MARIA CRISTINA MINGUES SPINOLA
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. SILVIO MOURE CICERO

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção de título de Doutor em
Agronomia, Área de Concentração: Fitotecnia

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Setembro - 1999

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Spínola, Maria Cristina Mingues

Alterações bioquímicas e fisiológicas de sementes de milho em diferentes períodos de envelhecimento acelerado e suas relações com o armazenamento / Maria Cristina Mingues Spínola. - - Piracicaba, 1999.

135 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.
Bibliografia.

1. Armazenamento 2. Bioquímica vegetal 3. Envelhecimento precoce 4. Fisiologia vegetal 5. Milho 6. Semente de milho 7. Teste de vigor I. Título

CDD 633.15

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - O Autor"

*Aos meus pais Helena e Miguel (in memoriam)
pelos seus eternos ensinamentos de vida.*

DEDICO

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Silvio Moure Cicero, pela orientação e constante apoio.

Aos Professores Dr. Murilo de Melo, Dr. Júlio Marcos Filho e Dr. Walter Rodrigues da Silva, pelos ensinamentos e atenção sempre dispensada.

Às Engenheiras Agrônomas Helena M. C. P. Chamma e Ana Dionisia L. C. Novembre, pela amizade, orientação e constante apoio.

Ao Antônio de Campos Amaral pela paciência nos ensinamentos e incentivo.

Aos funcionários do Departamento de Agricultura, em especial a Ilze Helena de Gaspari das Neves, Hodair Banzatto Junior, Carlos A. Carlet, João E. Jabur, João B. Bigelli, Celestino A. Ferreira e Maria Aparecida T. Soledade, pela colaboração e prezado convívio.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudo concedida e suporte financeiro para a realização da pesquisa.

Aos colegas do curso de pós-graduação pela amizade, carinho e incentivos, em especial à Mariane, Angélica, Maristela, Fernanda, Patricia, Renata, Leila, Roseli, Oscar, Marcelo, Osmar, Vilela e Salvador.

À família Martins em nome de: Marise, Mônica, Mauricio, Márcio, Sr. Edmilson e Sra. Alíce, considerada minha família em Piracicaba.

E a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	ix
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Deterioração e Qualidade de Semente.....	03
2.2 Alterações Protéicas e Isoenzimáticas Durante o Processo de Deterioração de Sementes.....	08
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Sementes Utilizadas.....	14
3.2 Determinação do Grau de Umidade.....	14
3.3 Análise da Qualidade Fisiológica.....	14
3.3.1 Teste de germinação.....	14
3.3.2 Teste de envelhecimento acelerado.....	15
3.3.3 Teste de frio com terra.....	15
3.3.4 Teste de emergência de plântulas em campo.....	16
3.3.5 Teste de condutividade elétrica.....	16
3.3.6 Procedimento estatístico.....	16
3.4 Análise Sanitária.....	17
3.4.1 Teste de sanidade.....	17
3.5 Análise Bioquímica.....	18
3.5.1 Preparo das amostras.....	18
3.5.2 Determinação do teor de proteína das amostras.....	18
3.5.3 Eletroforese de gel de poliacrilamida.....	18
3.5.4 Revelação dos géis para proteínas.....	18
3.5.5 Revelação dos géis para malato desidrogenase.....	19
3.5.6 Revelação dos géis para fosfatase ácida.....	19
3.5.7 Revelação dos géis para peroxidase.....	20
3.5.8 Avaliação dos perfis eletroforéticos.....	20

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 Períodos de Envelhecimento Acelerado.....	21
4.1.1 Híbrido AG 9014.....	21
4.1.2 Híbrido AG 122.....	36
4.1.3 Híbrido AG 5011.....	49
4.2 Períodos de Armazenamento.....	60
4.2.1 Híbrido AG 9014.....	60
4.2.2 Híbrido AG 122.....	71
4.2.3 Híbrido AG 5011.....	81
4.3 Comparação entre as Alterações Fisiológicas e Bioquímicas Detectadas nos Diferentes Períodos de Envelhecimento Acelerado e as Detectadas nos Diferentes Períodos de Armazenamento.....	91
4.3.1 Híbrido AG 9014.....	91
4.3.2 Híbrido AG 122.....	100
4.3.3 Híbrido AG 5011.....	106
4.4 Considerações Gerais.....	113
5 CONCLUSÕES	114
ANEXOS.....	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE MILHO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ENVELHECIMENTO ACELERADO E SUAS RELAÇÕES COM O ARMAZENAMENTO

Autor: Maria Cristina Mingues Spinola

Orientador: Prof. Dr. Silvio Moure Cicero

RESUMO

A presente pesquisa, conduzida no Laboratório de Análise de Sementes e no Campo Experimental do Departamento de Produção Vegetal, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e no Centro de Biotecnologia (CEBTEC) do campus “Luiz de Queiroz”, pertencentes à Universidade de São Paulo, em Piracicaba, Estado de São Paulo, objetivou avaliar as alterações bioquímicas e fisiológicas que ocorrem nas sementes de milho durante o envelhecimento acelerado e no armazenamento. Para tanto, quatro lotes de sementes de milho, híbridos simples (AG9014), duplo (AG122) e triplo (AG5011) foram submetidos a diferentes períodos (0, 24, 48, 72, 96, e 120 horas) de envelhecimento acelerado (41°C e 100%UR) e de armazenamento (ambiente sob condições não controladas). As alterações bioquímicas foram mensuradas pela análise eletroforética de proteínas totais e das isoenzimas malato desidrogenase, fosfatase ácida e peroxidase em gel de poliacrilamida e as fisiológicas pelos testes de germinação e vigor (envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica). A análise dos dados e a interpretação dos resultados permitiram concluir que: a) variações nos perfis eletroforéticos de proteínas

totais e das isoenzimas fosfatase ácida e peroxidase estão associadas ao processo deteriorativo de sementes de milho; b) as análises bioquímicas são mais efetivas do que os testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica, para indicar o efeito deteriorativo provocado pelo teste de envelhecimento acelerado nas sementes de milho; c) as alterações verificadas nas sementes, envelhecidas artificialmente ou armazenadas em condições ambientais, apresentam respostas distintas conforme o genótipo; d) o envelhecimento acelerado e o armazenamento apresentam similaridade quanto às alterações bioquímicas detectadas nas sementes.

BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL ALTERATIONS OF CORN SEED DURING ACCELERATED AGING AND RELATIONSHIP WITH SEED STORAGE

Author: Maria Cristina Mingues Spinola

Adviser: Prof. Dr. Silvio Moure Cicero

SUMMARY

This work was carried out at Seed Analysis Laboratory, at Experimental Station of Plant Production Department and at Agricultural Biotechnology Center of Luiz de Queiroz Campus (ESALQ/USP) in Piracicaba, São Paulo State. It was aimed at evaluating the biochemical and physiological alterations occurring during corn seed accelerated aging compared to seed storage. Simple (AG9014), double (AG122) and triple (AG5011) hybrid corn seeds of four different lots were submitted to zero, 24, 48, 72, 96 and 120 hours of accelerated aging (41°C and 100% UR) and to storage without any controlled conditions. Biochemical alterations were evaluated by protein content and total protein, acid phosphatase, peroxidase and malate dehydrogenase electrophoresis. Physiological alterations were evaluated by germination test and seed vigor (accelerated aging, cold test with soil, field seedling emergence and electrical conductivity). The obtained results indicated: a) relationship between the corn seed deterioration process during the aging and the isozyme electrophoretic pattern of total protein, acid phosphatase and peroxidase; b) the biochemical assays carried out are more sensitive than the physiological

tests used to monitorate corn seed physiological quality deterioration during corn seed accelerated aging; c) the biochemical alterations for both, accelerated aging and storage without any controlled conditions were genotype-dependent; d) biochemical alterations showed similarities for both types of aging but were distinct in time.

1 INTRODUÇÃO

O objetivo fundamental de um sistema organizado de produção de sementes é a obtenção de material de alta qualidade genética, física, fisiológica e sanitária, permitindo que as características superiores dos cultivares obtidos pela pesquisa, sejam transferidas aos agricultores.

A qualidade fisiológica das sementes é máxima por ocasião da maturidade; a partir deste momento processos degradativos começam a ocorrer. Essas alterações, que podem ser de natureza física, fisiológica ou bioquímica, caracterizam a deterioração, sendo a perda da capacidade germinativa uma das suas consequências finais.

A detecção da deterioração de sementes por intermédio de testes de vigor pode ser entendida como componente importante na avaliação da qualidade fisiológica, contribuindo na solução de problemas da indústria de sementes, tal como o armazenamento. Dentro deste contexto, o teste de envelhecimento acelerado foi desenvolvido para avaliar o potencial relativo de armazenamento de lotes de sementes. Este teste destaca-se por apresentar alto grau de padronização e reprodutibilidade, tanto em termos de metodologia de execução como interpretação dos resultados obtidos.

O principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros relacionados à deterioração das sementes, que precedem a perda da capacidade germinativa. Dentro desta idéia destaca-se a técnica da eletroforese de proteínas, que pode possibilitar a detecção dos estádios iniciais da deterioração, através da atividade de enzimas associadas

com a degradação e oxidação de substâncias de reserva bem como biosíntese de novas substâncias.

Embora existam na literatura trabalhos que estudem os efeitos do teste de envelhecimento acelerado nas sementes, poucos evidenciam tais efeitos em termos de alterações proteicas e enzimáticas.

Justifica-se assim, a presente pesquisa que teve como objetivo avaliar possíveis alterações bioquímicas, por meio de análises eletroforéticas, e fisiológicas, pelos testes de germinação e de vigor, que ocorrem nas sementes de três híbridos de milho em diferentes períodos do teste de envelhecimento acelerado. Associando estas alterações com as alterações deteriorativas que ocorrem nas sementes naturalmente envelhecidas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Deterioração e Qualidade de Semente

A deterioração de sementes é definida como toda e qualquer transformação degenerativa da semente, podendo ser de origem bioquímica, física, fisiológica ou genética. Constitui-se em um processo contínuo e universal, com direção progressiva em níveis variáveis, rumo a perda de viabilidade e passando por mudanças nas propriedades fisiológicas e bioquímicas. A deterioração pode começar cedo, quando as sementes atingem a maturidade fisiológica e continuar até a morte da semente, sendo a perda da capacidade germinativa uma das manifestações finais da deterioração.

Para Ching & Schoolcraft (1968), o mecanismo de envelhecimento ou deterioração era ainda um enigma, sendo necessário entender esse processo, em sequência, para garantir condições e recomendações adequadas para o armazenamento das sementes.

Delouche & Baskin (1973), entendiam a deterioração como uma sequência hipotética de eventos, que se inicia com a desorganização de membranas e perda de sua permeabilidade, e culmina, com a redução do poder germinativo e morte da semente. A queda do potencial de armazenamento também é considerada nessa sequência, bem como o decréscimo da velocidade de germinação, da porcentagem de emergência de plântulas e a ocorrência de anormalidades nas mesmas.

Para James (1967), as teorias consideradas sobre deterioração e perda de viabilidade incluíam: a) o esgotamento das reservas do embrião, abandonada

precocemente pelas evidências de que sementes mortas apresentavam amplo suprimento de alimento; b) modificações protéicas, sem base sólida para comprovação; c) inativação de enzimas e respiração; d) desenvolvimento de ácidos graxos.

Villiers (1973), associou a degradação das membranas como causa primordial da deterioração e propôs que o mecanismo de degeneração das membranas refere-se a produção de radicais livres na cadeia dos ácidos graxos insaturados, do que resultaria uma desestruturação da membrana.

Essa desestruturação da membrana teria reflexo sobre sua capacidade de regular o fluxo de solutos, tanto numa célula como numa organela. Assim, a peroxidação dos lipídeos teria efeito inicialmente sobre a permeabilidade das membranas, seguida da alteração da atividade respiratória (Wilson & MacDonald, 1986). Para Bewley (1983), é de concordância geral, que algum declínio nos fosfolipídeos das membranas ocorre em resposta ao envelhecimento, entretanto nem sempre essas alterações acompanham o declínio dos ácidos graxos saturados e insaturados. De acordo com o mesmo autor, há pequena evidência de que a deterioração da membrana seja evento primário no curso da perda de viabilidade. Ross (1983), acrescentou que a deterioração pode ser explicada pelas alterações na solubilidade e digestibilidade das proteínas durante o armazenamento.

Para McGee (1983), as causas básicas da deterioração podem ser incluídas em duas categorias : a primeira agrupa, os danos causados pela invasão dos tecidos por patógenos e a deterioração natural dos tecidos durante o envelhecimento; a segunda abrange causas fisiológicas e bioquímicas ligadas ao metabolismo, incluindo danos cromossômicos em macromoléculas que podem levar à desnaturação de enzimas e inativação dos ácidos nucleicos e membranas não funcionais; diminuição na eficiência metabólica de organelas, células e órgãos devido ao aumento de uso; e a elevação nos níveis de mutações somáticas com o aumento da idade do tecido, acarretando aumento de mutações indesejáveis que

conduzem a disfunções metabólicas.

Resultados obtidos por Abdalla & Roberts (1968), mostraram que a redução da qualidade fisiológica das sementes é acompanhada pelas mutações cromossômicas.

Para Côme (1983), contrariamente ao que vários autores têm assumido, não parece possível atribuir a perda de viabilidade a degradação ou exaustão de reservas das sementes, a destruição ou desnaturação de moléculas essenciais para a vida das sementes, como vitaminas, hormônios e enzimas ou a produção de substâncias tóxicas, ou à ação de microrganismos. No seu ponto de vista as teorias que prevalecem no momento atual referem-se ao acúmulo de danos nos núcleos e organelas citoplasmáticas.

De acordo com Ross (1983), durante o armazenamento pode-se considerar o fator genético sob dois aspectos: o primeiro é a obvia diferença genética entre cultivares, espécies e grupos taxonômicos e o segundo referente ao dano real causado ao DNA durante o armazenamento.

Assim, existem evidências de que a perda da viabilidade é acompanhada por redução na capacidade de sintetizar proteínas, devido ao declínio num componente fundamental da síntese de proteína, como ribossomo, RNA mensageiro, fatores citoplasmáticos (Cherry & Skadsen, 1983).

Segundo Toledo & Marcos Filho (1977), a queda do poder germinativo é a manifestação mais acentuada da deterioração. Os testes de vigor são considerados importantes por revelarem pequenas diferenças no estágio de deterioração de lotes de sementes; por outro lado, os testes de germinação geralmente acusam apenas grandes diferenças de deterioração. Desta forma, o uso de testes de vigor é de grande utilidade no monitoramento da qualidade das sementes a partir da maturidade, durante a colheita, processamento e armazenamento, pois a queda do vigor precede a perda da viabilidade.

Entre os diversos testes de vigor existentes, o teste de envelhecimento acelerado merece destaque, pois, já existe grandes evidências (Delouche, 1976;

AOSA, 1983; Krzyzanowski & Miranda, 1990) de que, dentro de um mesmo laboratório, o mesmo se traduz como um teste que apresenta alto grau de padronização e reprodutibilidade, tanto em termos de metodologia de execução como de interpretação dos resultados obtidos.

Para Zink (1970), o envelhecimento acelerado é considerado um teste mais apropriado às condições brasileiras de clima tropical e subtropical do que o teste de frio. Ressaltando ainda que, de acordo com o comentário emitido por Delouche (1976), ao contrário do teste de frio, todas as variáveis desse teste são controláveis, permitindo a possibilidade de se alcançar elevada padronização de resultados.

O princípio básico deste teste é de que o processo de deterioração, nas condições do teste, é similar ao que ocorre em condições normais de armazenamento, porém com velocidade de deterioração aumentada. Neste caso, a velocidade dos processos deteriorativos é intensificada pela exposição das sementes a níveis elevados de calor (40-45 °C) e de umidade relativa do ar (aproximadamente 100%), por períodos variáveis em função da espécie e, posteriormente, submetidas ao teste de germinação. A taxa de germinação obtida pode estar relacionada com o desempenho do lote; o teste baseia-se na premissa de que as sementes menos vigorosas perdem a capacidade de germinação mais rapidamente após o envelhecimento acelerado. (MacDonald, 1975; AOSA, 1983).

Segundo (Grabe, 1976; AOSA, 1983) o teste de envelhecimento acelerado é um dos teste mais utilizados nos EUA para avaliar o desempenho de lotes de sementes sob condições de campo , bem como para predizer o seu potencial de armazenamento.

Entretanto, existem poucos trabalhos consistentes que determinem uma relação direta entre este teste e o tempo aproximado que um lote de sementes pode permanecer armazenado sem perder sua condição de semente. Delouche & Baskin (1973), estudando o potencial de armazenamento de 31 lotes de sementes de milho, determinada através do teste de envelhecimento acelerado, mostraram

uma correlação entre a germinação, após o envelhecimento acelerado, e a viabilidade das sementes durante o armazenamento

Outros parâmetros, além dos testes de vigor mais comuns, estão sendo pesquisados visando a avaliação da qualidade das sementes.

Para Copeland & McDonald (1985), a respiração é uma repressão da atividade de um grande número de enzimas, que atuam na metabolização de reservas. A medida que se processa a deterioração, a taxa respiratória diminui, tendo como consequência final a perda da germinação. Assim, para medir a deterioração no seu princípio, os testes mais sensíveis são aqueles que medem a atividade de certas enzimas associadas com metabolização ou biossíntese em tecidos novos.

A eletroforese mostra-se como uma técnica adequada para esse fim, a qual tem sido empregada com sucesso para o fracionamento de proteínas e ácidos nucleicos. Para tanto, os géis de amido e poliacrilamida apresentam características tais que proporcionam bons resultados em pesquisa dessa natureza (Thoru & Maurer, 1971).

Priestley (1986), associou a perda de algumas formas de isoenzimas tais como, a peroxidase, fosfatase ácida, dehidrogenase, esterase e aminopeptidase com o envelhecimento severo de um grupo de espécie de sementes.

Chauhan et al (1985), estudando variação eletroforética de proteínas e enzimas de soja e cevada em relação a qualidade das sementes, observou que bandas de proteínas e enzimas (esterases, fosfatase e transaminases) funcionam como marcas moleculares na avaliação da qualidade. Também, Vieira (1996), encontrou como promissores indicadores do estágio de deterioração de sementes de algodoeiro as variações eletroforéticas de proteínas e das enzimas glutamato desidrogenase, malato desidrogenase, fosfatase ácida, enzima málica, peroxidase e 6-fosfogluconato.

Os perfis eletroforéticos de proteínas mostram grande número de

polipeptídeos possíveis de serem analisados, possibilitando a identificação de grupos característicos e suas alterações com o envelhecimento e eventos fisiológicos. A eletroforese, através da detecção de alterações na composição protéica e de enzimas específicas pode ser eficiente ferramenta para o acompanhamento da qualidade das sementes durante o armazenamento (Carraro, 1990).

Algumas companhias de sementes já instituíram que a eletroforese pode ajudá-las a economizar no custo de produção, a realizar pesquisas e auxiliar nos testes de qualidade de seus produtos do campo até a embalagem final (Martinez, 1990).

2.2 Alterações protéicas e isoenzimáticas durante o processo de deterioração de sementes

As primeiras mudanças deteriorativas que afetam a qualidade das sementes têm sido atribuídas a vários processos bioquímicos, como desnaturação de biomoléculas e acumulação de substâncias tóxicas, em adição a queda da integridade da membrana (Basavarajappa et al., 1991). Nesse sentido numerosas tentativas tem sido feitas visando correlacionar queda na viabilidade de sementes com alterações na atividade de certas enzimas.

As primeiras enzimas investigadas em relação ao processo deteriorativo das sementes foram as oxidases, catalases, peroxidases e fenolases (Crocker & Harrington, 1918). Posteriormente, mudanças na atividade da amilase, citocromo oxidase, ácido glutâmico descarboxilase e desidrogenase, dentre outras, foram investigadas por Throneberry & Smith, 1955; Walter, 1963 e Anderson, 1970. Segundo Throneberry & Smith (1955) estas enzimas desempenham importante papel na mobilização e utilização de nutrientes de reserva no processo germinativo. Em trabalho com milho, estes autores, encontraram correlação

positiva entre germinabilidade das sementes e atividade da citocromo oxidase, desidrogenase málica e álcool desidrogenase.

Chauhan et al. (1985), trabalhando com esterase, fosfatase ácida e glutamato oxaloacetato transaminase, em sementes secas e germinadas (24h e 48h) de soja e cevada submetidas a envelhecimento artificial, concluíram que os perfís eletroforéticos são específicos para cada espécie. Seus resultados indicaram, tanto em soja quanto em cevada, aumento do número de bandas das enzimas esterase e glutamato oxaloacetato transaminase para sementes secas envelhecidas artificialmente. Por outro lado, o número de bandas da enzima fosfatase ácida decresceu com o aumento do período de envelhecimento. Os autores também observaram de uma maneira geral, mudanças qualitativas em enzimas de sementes envelhecidas artificialmente e sugerem que essas mudanças sejam devidas ao aumento da atividade metabólica, que conduzem à deterioração.

Perl et al. (1978), em estudo sobre mudanças bioquímicas em sementes de sorgo afetadas pelo envelhecimento acelerado, constataram que a única enzima a revelar aumento de sua atividade com o aumento do período de envelhecimento acelerado foi a protease, dentre as diversas enzimas analisadas (amilase, Rnase, glutamato-piruvato-transmitase, glutamato desidrogenase e peroxidase). Já, Basavarajappa et al. (1991), em estudo sobre deterioração de membrana e outras mudanças bioquímicas em sementes de milho envelhecidas artificialmente, encontraram decréscimos na atividade de peroxidase, fosfatase ácida, fosfomonoesterase e desidrogenase e aumento na de fosfolipase A. Segundo os autores, um substancial aumento no total de aminoácidos livres e na atividade de amilase e protease confirmaram a degradação de biomoléculas armazenadas em sementes, durante o período de envelhecimento.

Agrawal (1988), menciona que em sementes ortodoxas, tem sido observado durante o armazenamento, um decréscimo em atividade de PEP carboxilase e RUBP carboxilase e um incremento em atividade de protease. Segundo o autor, esse incremento da atividade de protease pode ser responsável

pelo decréscimo na atividade de outras enzimas.

Rajagopal & Sem-Mandi (1992), em estudos da atividade de fosfatase alcalina e ácida em embriões de sementes de arroz, concluíram que a atividade de fosfatase alcalina decresceu com o envelhecimento tanto natural quanto artificial, enquanto a fosfatase ácida apresentou maior atividade em sementes envelhecidas artificialmente, em relação às envelhecidas naturalmente e não envelhecidas. Somen Nandi & Swatt Senmandi (1995), sugerem que a atividade de β amilase é um indicador real da viabilidade de sementes de arroz.

Shatters et al. (1994), em estudo envolvendo o efeito do envelhecimento artificial e "priming" sobre enzimas específicas de sementes de soja, concluíram que atividade de malato desidrogenase (MDH), foi a menos afetada pelos tratamentos de envelhecimento. A atividade da glutamato desidrogenase (GDH) foi reduzida em 17% após 48 horas de envelhecimento artificial e quase completamente perdida após 96 horas. Após 48 horas de envelhecimento artificial houve uma queda de duas isoenzimas esterases na proporção de 77%, no entanto, a esterase total teve sua atividade aumentada.

Embora mudanças em atividade enzimática em sementes deterioradas têm sido descritas desde 1930 (Revisão de Priestley, 1986), segundo Shatters et al. (1994) a maioria das mudanças não apresenta consistência a um mesmo nível, durante deterioração de espécies e variedades semelhantes, pois pouco tem sido feito para determinar a natureza dessas mudanças. Segundo o autor, não é conhecido se essas mudanças aparecem independentemente baseadas na suscetibilidade individual da proteína para estresse físico ambiental, presente durante armazenamento, ou se elas são o resultado de um simples evento, tais como, ativação de proteases ou outros processos celulares que poderiam finalmente afetar a função de muitas enzimas.

As proteínas podem também sofrer mudanças de configuração resultante da quebra parcial ou desdobramento de estrutura, condensação para formar polímeros e degradação para sub unidades. Essas mudanças de

configuração têm sido também consideradas como uma forma de estimar a viabilidade e estágio de deterioração de sementes. Roberts (1972), relatou a redução de metabólitos essenciais, incluindo perdas de reservas de alimentos, como um dos fatores importantes para perda de viabilidade de sementes em geral.

Nesse sentido vale ressaltar trabalhos de alguns pesquisadores que de uma forma diferenciada tratam desse aspecto. De modo geral, evidências são apresentadas reforçando a possibilidade da utilização de marcadores bioquímicos (proteínas) para estimar a condição fisiológica de uma semente. Como exemplos podem ser referidos inicialmente os trabalhos de Prasad & Pathak (1987), que observaram a degradação de substratos como amido, açúcar total e proteína em sementes de milho. Nauttyal et al. (1985), relataram um nível bastante inferior de proteína em sementes de *Shorea robusta* não viáveis em relação a sementes viáveis. Basavarajappa et al. (1991), observaram decréscimo de 50% no conteúdo de proteína solúvel em H₂O no final do período de envelhecimento de sementes de milho. Chauham et al. (1985), encontraram tanto em sementes secas de soja como em cevada, incremento do número de bandas de proteína, com o aumento do período de envelhecimento. Segundo o autor, os perfis eletroforéticos de proteína e enzimas de sementes com envelhecimento prolongado assemelham-se àqueles de sementes não envelhecidas porém germinadas pelo período de 24 a 48 horas. Dell'Aquila (1994), em sementes de trigo, demonstrou que padrões de proteínas foram afetados pelo envelhecimento. Os resultados sugerem, segundo o autor, que mudanças bioquímicas requeridas para germinação são gradualmente opostas às requeridas no processo de deterioração e que alguns polipeptídeos recém sintetizados podem ser considerados como marcadores na avaliação de sobrevivência de sementes submetidas ao estresse por envelhecimento.

No entanto, Reuzeau et al. (1992), analisando a composição de proteínas de sementes de girassol para identificar um possível marcador na avaliação da viabilidade de sementes recém colhidas e após armazenamento sob condições ambiente, observaram que uma relação precisa entre composição

protéica e estimativa de germinabilidade pode não ser determinada. Varier & Dadlani (1992), também encontraram que o padrão de bandas de proteínas solúveis, em algodão, não foi afetado pelo envelhecimento natural, a despeito de considerável perda de viabilidade. Entretanto, sob envelhecimento artificial, diferenças marcantes nos perfis de proteínas foram observados, mesmo quando havia somente um decréscimo no vigor e não em viabilidade de sementes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análise de Sementes e no Campo Experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e no Centro de Biotecnologia (CEBETC) do Campus “Luiz de Queiroz”, pertencentes à Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP.

Para melhor entendimento do trabalho, este foi dividido em três estudos. Para o primeiro e segundo estudos foram realizados dois experimentos com a finalidade de se detectar as alterações fisiológicas e bioquímicas que ocorrem nas sementes em diferentes períodos de envelhecimento acelerado (experimento I) e de armazenamento (experimento II). O terceiro, compreendeu o estudo das relações entre as alterações deteriorativas das sementes verificadas nos experimento I e II.

Experimento I

Os tratamentos constaram de 6 períodos (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas) de permanência das sementes em incubadora, tipo BOD, nas condições do teste de envelhecimento acelerado. Para tanto, utilizou-se, de cada lote, quantidade de sementes suficiente para uma distribuição uniforme sobre uma tela de alumínio fixado no interior de uma caixa plástica tipo “gerbox”, funcionando como compartimento individual (mini-câmara). No interior dessa mini-câmara foram adicionados 40 ml de água e, em seguida, os gerbox adaptados foram transferidos a BOD regulada a 41°C.

Após a remoção das sementes da BOD, determinou-se o teor de água (método da estufa à $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$), atingido pelas sementes nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado. A seguir, visando a uniformização do teor de água das sementes em todos os tratamentos, as sementes foram mantidas em condições controladas (60%UR e 20°C), até atingirem peso constante, para posterior condução dos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

Experimento II

Para este experimento, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel multifoliado, tipo Kraft, mantidos em ambiente sob condições não controladas, durante o período de um ano. Bimestralmente foram retiradas amostras para as análises bioquímicas e quadrimestralmente para a avaliação dos parâmetros fisiológicos e sanitários das sementes.

3.1 Sementes Utilizadas

Foram utilizadas sementes de três híbridos, simples (AG9014), duplo (AG122) e triplo (AG5011), representadas por 4 lotes com qualidades distintas.

3.2 Determinação do grau de umidade

Foi realizada com sementes inteiras, em estufa regulada a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, utilizando-se a metodologia descrita em Brasil (1992).

3.3 Análise da Qualidade Fisiológica

3.3.1 Teste de germinação

Utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes por lote para cada tratamento; efetuou-se a semeadura em rolo de papel-toalha da marca Germitest e incubou-se em germinador regulado à temperatura constante de 25°C . O volume (ml) de água utilizado para umedecimento do substrato foi 2,5

vezes o seu peso (g). As avaliações foram efetuadas aos 4 e 7 dias após a instalação do teste, de acordo com os critérios estabelecidos em Brasil (1992) e o resultado expresso em porcentagem média de plântulas normais.

3.3.2 Teste de envelhecimento acelerado

Adotando-se a metodologia recomendada pelo Comitê de Vigor da Association of Official Seed Analysts/AOSA (1983) e descrita por Marcos Filho et al. (1987), quatro repetições de 50 sementes por lote para cada tratamento foram distribuídas sobre uma bandeja de tela de alumínio, fixada no interior de uma caixa plástica tipo “gerbox”, funcionando como compartimento individual (mini-câmara). No interior dessas mini-câmaras foram adicionados 40 ml de água e, em seguida, os “gerbox” adaptados foram transferidos a uma incubadora, regulada a 41°C por um período de 96 horas. Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação e após quatro dias, foi realizada a avaliação, computando-se a porcentagem média de plântulas normais por tratamento.

3.3.3 Teste de frio com terra

O teste de frio foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote para cada tratamento e instalado em caixas plásticas (60 X 30 X 10 cm) contendo uma mistura de areia e terra proveniente de área recentemente cultivada com milho, nas proporções respectivas em peso, de 2:1.

Após a semeadura, foi adicionado água no substrato até que o mesmo atingisse 60% da capacidade de retenção.

As caixas contendo as sementes permaneceram em câmara fria (10°C) por sete dias e, posteriormente, foram mantidas em ambiente de laboratório por mais sete dias, quando as plântulas emersas foram contadas e os resultados expressos em porcentagem média de plântulas emersas por tratamento.

3.3.4 Teste de emergência de plântulas em campo

Foi realizada com quatro repetições de 50 sementes por lote para cada tratamento. Cada amostra foi semeada em um sulco com 2 m de comprimento e com 0,03 m de profundidade; a distância entre sulcos foi de 0,30 m. A única contagem foi efetuada no 14º dia após a semeadura, determinando-se as porcentagens médias de plântulas emersas por tratamento conforme procedimentos descritos por Marcos Filho et al. (1987).

3.3.5 Teste de condutividade elétrica

Realizado conforme a recomendação do Comitê de Vigor da ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (1983).

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por lote para cada tratamento, previamente escolhidas para remoção daquelas com pericarpo danificado. Após a pesagem de cada amostra, as sementes foram imersas em 75 ml de água destilada, no interior de copos plásticos, sob temperatura de 25°C, durante 24 horas. Decorrido esse período, a condutividade elétrica da solução foi determinada através de condutivímetro e os valores médios para cada parcela foram expressos em micromho por centímetro por grama de sementes.

3.3.6 Procedimento estatístico

A análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados, foi realizada separadamente para cada teste, segundo delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, onde a comparação entre as médias dos lotes e dos períodos foi efetuada através do teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade. Os dados referentes ao grau de umidade não foram submetidos à análise estatística; os demais, com exceção da condutividade elétrica, foram transformados em $\arcsin(x/100)^{1/2}$.

Foi realizada também uma análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em

função das classificações estatísticas em cada teste (Calliari, 1999). Para tanto, os lotes foram pontuados com valores positivos, indicando o número de lotes aos quais mostrou-se superior e valores negativos para a situação inversa; a soma aritmética forneceu a pontuação final recebida pelo lote no teste. A soma dos valores obtidos em cada teste constituiu a pontuação final do lote.

Visando-se comparar os resultados obtidos nos teste utilizados na avaliação da qualidade fisiológica nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado com os obtidos nos diferentes períodos de armazenamento foi realizada análise de variância conjunta dos mesmos, desde que, para cada variável analisada, a relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo não fosse superior a 8,0 (Snedecor & Cochran, 1989).

3.4 Análise Sanitária

3.4.1 Teste de Sanidade

Foi realizado utilizando-se 40 sementes por lote para cada tratamento, através do método do papel de filtro com congelamento. Para o mesmo foram colocadas 3 folhas de papel de filtro, embebidas em água destilada, em placas de Petri de plástico, onde foram colocadas 10 sementes equidistantemente distribuídas. A incubação foi em câmara à $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ com regime de 12 horas de escuro, durante um período de 24 horas. Em seguida, foram transferidas, para condições de congelamento à -5°C por mais 24 horas, com a finalidade de evitar a germinação das sementes. Decorrido este período de tempo as sementes foram retornadas à câmara por mais 5 dias, completando-se um período total de 7 dias para a avaliação da porcentagem média de microrganismos presentes nas sementes. As porcentagens e a identidade dos microrganismos encontrados foram avaliadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e quando necessário, a identificação de suas estruturas foi utilizado o microscópio composto.

3.5 Análise Bioquímica

Como análises bioquímicas foram realizadas, a eletroforese vertical em gel de poliacrilamida para proteínas totais e para as isoenzimas peroxidase, fosfatase ácida, malato desidrogenase, cujas metodologias se encontram descrita a seguir:

3.5.1 Preparo das amostras

Aproximadamente 40 sementes, previamente desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio 1%, por amostra de cada tratamento foram trituradas e as proteínas de 500 mg de sementes moídas foram extraídas por maceração em 1,5 mL de tampão TRIS 0,1 M - pH 7,0 a temperatura de 0 a - 5°C. Os extratos foram centrifugados à 10.000 g, por 15 minutos à 5°C e o sobrenadante utilizado como fonte de proteína e enzimas

3.5.2 Determinação do teor de proteínas das amostras

O teor de proteínas nas amostras foi determinado pelo método descrito por Bradford (1976), com as leituras da densidade ótica a 595nm feitas em espectrofotômetro HITACHI, modelo U3210, tendo como padrão albumina de soro bovino.

3.5.3 Eletroforese de gel de poliacrilamida

A eletroforese em gel de poliacrilamida foi desenvolvida em sistema descontinuo (7,0% gel de separação e 4,0% gel de concentração). em cubas tipo Protean II, por um período aproximado de 4 horas, à 4°C , sob uma tensão de aproximadamente 100V e corrente de 15mA. O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi tris-glicina 0,5M em pH 8,9.

Alíquotas das amostras contendo 100 e 200µg de proteína foram aplicados nos géis de proteína totais e de isoenzimas, respectivamente.

3.5.4 Revelação dos geis para proteínas

Para esta revelação se utilizou o método descrito por Paccolla-Meirelles et al. (1988).

Os géis, após terem sido retirados das placas, foram mergulhados, por 12 horas, numa solução de 50ml de Fixador Page (45ml de metanol, 10ml de ácido acético e 45ml de água deionizada) e 50mg de “azul de Comassie” (“Brilhan Blue R250”), à temperatura ambiente.

Após este período os géis foram transferidos para uma solução descorante (5ml de metanol, 7ml de ácido acético e 88ml de água deionizada) e mantidos à temperatura ambiente até a descoloração do fundo e individualização das bandas.

3.5.5 Revelação dos géis para malato desidrogenase

Foi utilizada, nesta revelação, a metodologia descrita por Vallejos (1983).

Incubou-se o gel a 37°C até que as bandas aparecessem; para tanto, utilizou-se a seguinte solução reveladora:

- DI- Malato a 1M pH=7,5	1,5ml
- NAD	15 mg
- MTT	10 mg
- PMS	2 mg
- Tris- HCL 0,1M pH=7,5	50ml

Após este período lavou-se o gel em H₂O e fixou-se em álcool 10%.

3.5.6 Revelação dos géis para fosfatase ácida

Foi utilizada, nesta revelação, a metodologia descrita por Vallejos (1983).

Após a remoção das placas, os géis foram imersos em uma solução tampão acetato 0,5M de pH 5,0 e colocados em geladeira, por uma hora, para equilibrar o pH.

Em seguida foram incubados, por 12 horas, em local escuro à temperatura ambiente, em solução reveladora de fosfatase ácida, com a seguinte composição:

- tampão acetato 0,5M, pH 5,0
- 1mg de α -naftilfosfato/ml de solução tampão
- 1mg de "Fast Red" /ml de solução tampão
- 1mg de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ /100ml de solução tampão

Decorrido este período, foi efetuada uma lavagem com água deionizada e duas lavagens com solução de água deionizada, etanol e ácido acético, na proporção de 5:5:1.

3.5.7 Revelação dos géis para peroxidase

Nestas revelações foi empregado o método descrito por Graham et al. (1964).

Os géis, após removidos das placas, foram incubados em solução tampão acetato de sódio 0,05M de pH 5,0, por uma hora, em geladeira, para equilibrar o pH. A seguir, foram transferidos para uma solução reveladora de peroxidase, com a seguinte formulação:

- tampão acetato de sódio 0,05M, pH 5,0
- 0,5mg de 3-amino-9-ethylcarbazol/ml de solução tampão
- 0,06ml de N-N-dimetilformamida/mg de 3-amino-9-ethylcarbazol
- 7 gotas de H_2O_2 a 30% / 100ml de solução tampão
- 3,0ml de CaCl_2 1M/100 ml de solução tampão

Os géis permaneceram por 12 horas nesta solução, em local escuro à temperatura ambiente. Vencido este período, foram lavados com água deionizada.

3.5.8 Avaliação dos Perfis Eletroforéticos

A avaliação dos perfis eletroforéticos obtidos, foi realizada através da análise visual, tendo como base a presença ou ausência de bandas e intensidade das mesmas. Para tanto, confeccionou-se tabelas a partir dos coeficientes de mobilidade relativa (R_f), representando pela razão entre a distância de migração da proteína e a distância de migração do corante.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Períodos de Envelhecimento Acelerado

4.1.1 Híbrido AG9014

Analizando-se o teor de água inicial das sementes antes do envelhecimento acelerado, período 0h (Tabela 01), pode-se constatar, relativa uniformidade do grau de umidade entre os lotes, o que é considerado uma premissa para se obter resultados confiáveis neste teste, uma vez que segundo Marcos Filho (1987), quanto maior o teor de água das sementes, maiores serão os efeitos deletérios deste teste.

Tabela 01. Valores médios dos teores de água (%) das sementes de milho, híbrido AG9014, após os períodos de envelhecimento acelerado.

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	10,3	15,0	17,6	20,0	21,3	21,6
L2	10,4	15,8	17,2	20,1	21,4	22,5
L3	10,0	16,0	18,1	20,7	21,7	22,7
L4	11,6	16,1	17,2	20,0	21,0	21,3

Entretanto, ao submeter-se as sementes aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, observou-se aumento nos teores de água à medida que os períodos aumentavam, tendendo a estabilização nos últimos períodos de permanência na câmara. Para se proceder as avaliações fisiológicas

comparativas entre os períodos, houve a necessidade de uniformização dos teores de água das sementes nos diferentes períodos. Após a uniformização, as mesmas permaneceram na faixa de 10 a 14,7% (Tabela 02).

Pela análise da Tabela 02 pode-se observar, que as diferenças estatísticas, entre os lotes, apresentadas pelos testes de germinação, envelhecimento acelerado, frio, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica, sempre revelaram o lote 4 como o de qualidade inferior aos demais lotes analisados. Por outro lado, o lote 1, revelou-se como lote de qualidade intermediária a partir dos períodos 0h no teste de frio, 24h no envelhecimento acelerado, 48h na germinação, 96h na emergência de plântulas em campo e 72h na condutividade elétrica. Resultados semelhantes foram observados, quando se realizou a análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em função das classificações estatísticas em cada teste (Tabela 03), confirmando assim, a qualidade inferior do lote 4 em relação aos demais, e a posição intermediária do lote 1.

Ao se analisar o comportamento dos lotes de sementes em relação aos diferentes períodos de permanência das sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado, verifica-se pela análise da Tabela 02, que o lote 1, no teste de germinação, apresentou, de maneira geral, um declínio na porcentagem de plântulas normais à medida que os períodos aumentavam; tal comportamento foi comprovado estatisticamente a partir do período de 96 horas.

Tabela 02. Valores médios do teor de água das sementes após uniformização e dos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes de milho, híbrido AG9014, referentes aos períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado

Teor de água (%)							Germinação (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h	lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	10,3	12,0	12,9	12,6	14,1	12,5	L1	97 Aa ¹	95 Aa	93 Ab	89 Ab	75 Bb	71 Bb
L2	10,4	12,6	12,9	13,0	14,2	13,5	L2	97 Aa	99 Aa	99 Aa	98 Aa	94 Aa	97 Aa
L3	10,0	12,5	12,6	12,9	14,7	13,0	L3	98 Aa	98 Aa	98 Aab	96 Aab	96 Aa	94 Aa
L4	11,6	12,9	11,8	11,7	13,4	12,6	L4	87 Ab	79 ABb	67 CDc	67 CDc	57 Dc	42 Ec
CV (%)							5,9	7,3	5,2	5,9	6,9	3,7	

Envelhecimento acelerado (%)							Frio com terra (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h	lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	91 Aa	82 ABb	71 Bb	53 Cb	49 Cc	47 Cb	L1	89 ABb	84 Bb	85 Bb	84 Bb	70 Cb	72 Cb
L2	97 Aa	93 ABab	95 ABa	93 ABa	94 ABa	87 Ba	L2	99 Aa	94 Aa	98 Aa	95 Aa	94 Aa	94 Aa
L3	95 Aa	94 Aa	94 Aa	94 Aa	86 Ab	87 Aa	L3	98 Aa	91 ABab	97 Aa	93 ABa	94 ABa	81 Bab
L4	66 Ab	39 Bc	25 Bc	27 BCc	28 BCd	15 Cc	L4	70 Ac	65 Ac	65 Ac	60 ABC	52 ABC	42 Bc
CV (%)	8,7	8,0	5,7	5,8	4,8	8,3	CV (%)	7,1	6,2	5,7	9,5	6,1	12,2

Emergência de plântulas em campo (%)							Condutividade elétrica (µmhos/cm/g sementes)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h	lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	95	Aa	92	ABa	91	ABa	90	ABa	88	ABb	82	Bb	
L2	99	Aa	96	Aa	96	Aa	96	Aa	96	Aab	97	Aa	
L3	100	Aa	99	Aa	97	Aa	96	Aa	98	Aa	94	Aa	
L4	78	Ab	76	Ab	80	Ab	69	Ab	63	Ac	42	Bc	
CV (%)	2,4	4,5	1,9	4,6	3,2	6,2	CV (%)	8,9	5,1	9,2	8,2	12,3	11,4

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 03. Ordenação geral dos lotes de sementes de milho, híbrido AG9014 a partir de pontuações oriundas das classificações estatísticas no conjunto de testes de vigor (envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica)

AG 122	Períodos de Envelhecimento					
LOTES	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	+ 03	+ 00	+ 00	+ 01	- 01	+ 00
L2	+ 05	+ 05	+ 06	+ 06	+ 08	+ 08
L3	+ 05	+ 05	+ 06	+ 07	+ 07	+ 07
L4	- 05	- 06	- 06	- 07	- 09	- 08

No teste de envelhecimento acelerado o mesmo declínio foi verificado, constatando-se diferença estatística a partir do período de 48 horas. Resultado semelhante foi observado também no teste de frio e emergência de plântulas em campo, revelando-se diferença estatística a partir do período de 96 horas no teste de frio e apenas no período de 120 horas na emergência de plântulas em campo. O teste de condutividade elétrica não revelou para este lote diferença estatística entre os diferentes períodos analisados.

O comportamento do lote 2 no parâmetro germinação não apresentou declínio de plântulas normais em relação aos períodos de envelhecimento. O mesmo comportamento foi observado ao se analisar os testes de frio, de emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica. No teste de envelhecimento acelerado, observou-se menor vigor no período de 120 horas em relação ao de 0 horas.

Para o lote 3, ao se analisar os parâmetros germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica, observa-se que os mesmos não foram sensíveis o suficiente para detectar diferença entre os períodos de permanência das sementes na câmara. O teste de frio, no período de 120 horas, foi o único a apresentar declínio de qualidade, estatisticamente comprovada em relação aos períodos de 0 e 48 horas.

O lote 4 no teste de germinação, apresentou diferença estatística em relação a testemunha (0h), a partir do período de 48h. Ao se analisar o teste de envelhecimento acelerado, observa-se que o declínio de qualidade foi verificado a partir de 24 horas de envelhecimento. Os testes de frio e emergência de plântulas em campo revelaram o período de 120 horas como o único a apresentar diferença estatística entre os períodos analisados. O teste de condutividade elétrica, não foi sensível o suficiente para detectar diferenças entre os períodos.

Observa-se então que os lotes que revelaram maior sensibilidade aos testes determinantes da qualidade fisiológica após os diferentes períodos de permanência as sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado, foram os lotes 4 e 1, respectivamente considerados como de baixa e intermediária qualidade quando comparados aos demais. Segundo Delouche et al (1973), a qualidade do lote influencia a resposta ao efeito deletérico imposto pelo teste de envelhecimento acelerado.

Verifica-se, também, que apesar dos lotes 2 e 3 serem considerados lotes de qualidade superior em relação aos demais, estes apresentaram maior incidência de fungos nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, principalmente de *Fusarium moniliforme* (Tabela 04). Wetzel (1987) citou que os principais danos causados por fungos de campo e armazenamento são o decréscimo na germinação, descoloração de parte ou de todo o grão, aquecimento e mofo, transformações bioquímicas, produção de toxinas, modificações celulares e outros. Por outro lado, Cordeiro et al. (1992), observou o acúmulo de dois grandes grupos de proteínas chamadas de PR proteínas (pathogenesis - related proteins), em resposta a infecção de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho. Entretanto, na presente pesquisa, o efeito deteriorativo provocado pela incidência de fungos não foi detectado, provavelmente devido ao estágio inicial e baixo nível de infecção que as sementes apresentaram.

Tabela 04. Análise sanitária das sementes após desinfecção: dados (%) da incidência de fungos detectada nos tratamentos (períodos de envelhecimento acelerado) em sementes de milho, híbrido AG9014

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1						
<i>A. alternata</i>	2,5	5	2,5	2,5	1,3	1,3
<i>F. moniliforme</i>	0	2,5	7,5	2,5	0	2,5
<i>Rhizopus sp.</i>	1,3	2,5	0	1,3	2,5	1,3
L2						
<i>A. alternata</i>	0	6,3	0	0	0	2,5
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	0	0	1,3	1,3
<i>Ce. acremonium</i>	0	2,5	1,25	0	2,5	1,3
<i>F. moniliforme</i>	2,5	6,3	20,0	13,8	13,8	21,3
L3						
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	0	0	0	1,3
<i>Ce. acremonium</i>	6,3	2,5	5,0	6,3	6,3	2,5
<i>F. moniliforme</i>	21,3	22,5	11,3	23,8	20,0	26,3
<i>Rhizopus sp.</i>	2,5	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
L4						
<i>A. alternata</i>	1,3	1,3	1,3	0	0	5,0
<i>Rhizopus sp.</i>	0	3,8	0	0	3,8	3,8

Em relação à análise eletroforética, pode ser observado, pelas Tabelas 05, 06 e 07, que dentre as enzimas avaliadas, a peroxidase e a fosfatase ácida, apresentaram diminuição do número e/ou intensidade das bandas com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado; ao passo que nos perfis eletroforéticos da enzima malato desidrogenase, não foram constatadas alterações com o aumento do período de envelhecimento acelerado.

Tabela 05. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da Isoenzima malato desidrogenase (MDH), nas sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

MDH	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamentos	Valores de Rf											
0h de EA	0,44	0,48	0,50	0,56								
lote 1	= ¹	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
24h de EA												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
48 de EA												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
72h de EA												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
96h de EA												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
120h de EA												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								

1 (= presença de banda. * banda de menor intensidade. + banda de maior intensidade. X ausência de banda)

Tabela 06. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima fosfatase ácida (FA), de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

FA	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamentos	Valores de Rf											
	0,50	0,55										
0h de EA												
lote 1	= ¹	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
24h de EA												
lote 1	=	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
48 de EA												
lote 1	=	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
72h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
96h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
120h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 07. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da Isoenzima peroxidase (PRX), de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

PRX	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamentos	Valores de Rf											
	0,03	0,08	0,10	0,10	0,15	0,19	0,24	0,30	0,32	0,37	0,39	
0h de EA												
lote 1	= ¹	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 4	*	*	*	*	=	=	=	=	=	=	=	x
24h de EA												
lote 1	*	*	*	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 2	*	*	*	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 3	*	*	*	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 4	*	*	*	x	x	x	=	x	x	x	x	
48 de EA												
lote 1	*	*	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 2	*	*	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 3	*	*	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 4	*	*	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
72h de EA												
lote 1	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 2	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 3	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 4	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
96h de EA												
lote 1	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 2	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 3	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 4	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
120h de EA												
lote 1	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 2	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 3	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	
lote 4	x	x	x	x	x	x	=	x	x	x	x	

1 (= presença de banda; * banda de menor intensidade; + banda de maior intensidade. X ausência de banda)

A malato desidrogenase (MDH) a enzima que manteve seus padrões isoenzimáticos inalterados com o avanço do processo deteriorativo das sementes pelo envelhecimento acelerado (Tabela 05), catalisa a conversão de malato à oxaloacetato, tendo uma importante função dentro do ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e outros compartimentos celulares, geralmente é de natureza constitutiva com atividade não limitante em todas as organelas e no citoplasma. Por se tratar de uma enzima importante na respiração celular, o aumento do número (expressão em diferentes compartimento celulares) e ou intensidade de coloração (indução da atividade da enzima) de bandas em sementes submetidas a períodos mais longos de envelhecimento artificial, observado por Brandão (1996) em sementes de milho envelhecidas pelo período de 144 horas e por Vieira (1996) em sementes de algodão quando submetidas aos maiores períodos de envelhecimento, pode ser devido ao aumento da respiração que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que as enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (Shatter et al., 1994). Na mesma pesquisa, Shatter et al. (1994), observaram que em sementes de soja, a atividade da enzima malato desidrogenase foi a menos afetada pelos tratamentos de envelhecimento. Portanto, é de se supor que o período de 120 horas de envelhecimento acelerado empregado no presente estudo pode não ter sido suficiente para ocasionar alterações nos perfís eletroforéticos desta enzima.

A fosfatase ácida, uma das enzimas que apresentaram decréscimo no número e ou intensidade de bandas com o envelhecimento acelerado, é uma hidrolase que participa em reações de hidrólise de esteres, podendo atuar sobre fosfolipídeos de membrana, provocando a peroxidação destes lipídeos. Roberts (1973), cita a preponderância de enzimas hidrolíticas terem a sua atividade incrementada com a perda da viabilidade. Entretanto, como pode ser observado pela tabela 06, esta enzima teve mostrou-se com menos atividade

nos período 0h, 24h e 48h de envelhecimento acelerado para o lote 4, considerado pelos testes determinantes da qualidade fisiológica como de qualidade inferior em relação aos outros lotes analisados e o desaparecimento por completo das referidas bandas foi constatado para todos os lotes a partir do período 72h de envelhecimento acelerado.

Portanto, a atividade da enzima fosfatase ácida, relacionou-se parcialmente com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Apesar dos resultados estarem em desacordo com os encontrados por Rajagopal e Sen-Mandi (1992), Krupta e Bandstrom (1974) e Zscheile (1974) citado por Cherry (1978), eles reforçam os de Chauhan et al. (1985), Perl et al. (1977), Jeng e Sung (1994), Sung e Jeng (1994) e Basavarajappa et al. (1991), nos quais a atividade da fosfatase ácida decresceu com o aumento do envelhecimento.

Pela análise da Tabela 07, pode ser observado também, uma mudança nos perfís eletroforéticos da isoenzima peroxidase com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado das sementes. No período 0h de envelhecimento acelerado foi observado apenas para o lote 4, alteração do padrão isoenzimático, no qual foi constatado diminuição da intensidade das três primeiras bandas e o desaparecimento por completo da última. A partir do período 24h, os padrões isoenzimáticos da peroxidase revelou-se semelhante para os diferentes lotes, nos quais foram observado nos períodos 24h e 48h de envelhecimento acelerado, diminuição da intensidade das suas primeiras bandas, que desapareceram nos subseqüentes períodos de envelhecimento. Foi constatado, também, a partir do período 24h de envelhecimento acelerado, o desaparecimento das 4ª, 5ª, 6ª, 8ª, 9ª, 10ª e 11ª bandas.

A atividade da peroxidase, relacionou-se também parcialmente com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Por ser a peroxidase uma das enzimas "scavenger" (Basavarajappa et al., 1991; Jeng e Sung, 1994), ou seja removedora de

peróxido, a perda de sua atividade, pode, parcialmente, esclarecer porque sementes envelhecidas acumulam mais peróxidos. Os resultados deste trabalho reforçam os de Basavarajappa et al. (1991), Jeng e Sung (1994), Sung e Jeng (1994) e Nkang (1988) citado por Basavarajappa et al. (1991). Outros autores, a exemplo de Abdul-Baki e Anderson (1972) e Hamil e Bewbaker (1969), encontram também relação entre a atividade das peroxidases com a viabilidade de sementes.

Em relação aos perfis eletroforéticos de proteínas totais, referentes aos extratos de sementes secas de milho que foram submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, pode ser observado pelas Tabelas 8a e 8b, que a ausência da 14ª banda verificada nos lotes 1 e 4 no período 0h persistiram até o último período de envelhecimento (120h). Entretanto, a partir do período 72h foi constatado para todos os lotes o desaparecimento de mais sete bandas (4ª, 5ª, 6ª, 10ª, 11ª, 18ª e 21ª). Esses resultados estão parcialmente de acordo com os detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das semente. Também Basavarajappa et al. (1991), Varier e Dadlani (1992) e Vieira (1996) encontraram decréscimo no número de bandas nos perfis eletroforéticos das proteínas de sementes envelhecidas artificialmente.

Portanto, para este híbrido (AG9014), verifica-se que as alterações isoenzimáticas (fosfatase ácida) e protéicas detectadas nos perfis eletroforéticos dos primeiros períodos (0h, 24h e 48h), em que as sementes foram expostas às condições do teste de envelhecimento acelerado, distinguiram a qualidade dos lotes, da mesma forma que a apresentada pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Já as alterações observadas nos períodos subsequentes (72h, 96h e 120h) dos referidos perfis e dos perfis da peroxidase, revelaram o provável efeito deteriorativo provocado pelo teste de envelhecimento acelerado, independentemente da qualidade dos lotes, apesar dos testes determinantes da qualidade fisiológica

não terem sido sensíveis o suficiente para detectar o efeito deteriorativo provocado pelo envelhecimento acelerado nos lotes 2 e 3.

Tabela 08a.Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

		Número de bandas																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Prot. Total																						
Tratamentos		Valores de Rf																				
0h de EA		0,02	0,03	0,06	0,10	0,12	0,15	0,18	0,21	0,23	0,26	0,28	0,30	0,38	0,40	0,43	0,46	0,50	0,51	0,56	0,60	0,64
lote 1	¹	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 2		=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3		=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4		=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=
24h de EA																						
lote 1		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 2		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=
48 de EA																						
lote 1		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 2		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4		=	=	=	*	*	=	=	=	=	=	*	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 08b.Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

		Número de bandas																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Valores de Rf		0,02	0,03	0,06	0,10	0,12	0,15	0,18	0,21	0,23	0,26	0,28	0,30	0,38	0,40	0,43	0,46	0,50	0,51	0,56	0,60	0,64
72h de EA																						
lote 1	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	X	=	=	*	X	*	*	X
lote 2	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	*	=	=	*	X	*	*	X
lote 3	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	*	=	=	*	X	*	*	X
lote 4	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	X	=	=	=	X	=	=	X
96h de EA																						
lote 1	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	X	=	=	*	X	*	*	X
lote 2	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	*	=	=	*	X	*	*	X
lote 3	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	*	=	=	*	X	*	*	X
lote 4	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	X	=	=	=	X	=	=	X
120h de EA																						
lote 1	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	X	=	=	*	X	*	*	X
lote 2	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	*	=	=	*	X	*	*	X
lote 3	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	*	=	=	*	X	*	*	X
lote 4	=	=	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	=	=	X	=	=	=	X	=	=	X

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

4.1.2 Híbrido AG 122

Analisando-se o teor de água inicial das sementes antes do envelhecimento acelerado, período 0h (Tabela 09), pode-se constatar, relativa uniformidade do grau de umidade entre os lotes, o que é considerado, como já visto, uma premissa para se obter resultados confiáveis neste teste.

Tabela 09. Valores médios dos teores de água (%) das sementes de milho, híbrido AG122, após os períodos de envelhecimento acelerado.

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	9,7	16,3	17,00	19,6	21,00	22,4
L2	9,7	16,0	17,5	19,8	21,3	21,7
L3	10,0	16,2	18,1	19,8	21,4	21,8
L4	9,5	16,6	18,5	20,0	21,7	23,1

Após a exposição das sementes aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, observou-se, como no híbrido simples (AG9014), aumento nos teores de água à medida que os períodos aumentavam, tendendo a estabilização nos últimos períodos de permanência na câmara. O que levou também a necessidade de uniformização dos teores de água dos diferentes períodos, para se proceder as avaliações fisiológicas comparativas entre os períodos. Após a uniformização do teor de água das sementes, as mesmas permaneceram na faixa de 9,5 a 15,5% (Tabela 10).

Pela análise da Tabela 10, pode-se observar que o teste de germinação revelou diferenças estatísticas entre os lotes apenas no último período de envelhecimento, diferindo o lote 1, de menor germinação, do lote 4. Por outro lado, o teste de envelhecimento acelerado apresentou diferença no período 24h, revelando o lote 2 como o de qualidade superior em relação ao lote 1 e no último período de envelhecimento acelerado (120h), no qual, o lote 1 revelou-se como de qualidade inferior aos demais.

Tabela 10. Valores médios do teor de água das sementes após uniformização e dos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes de milho, híbrido AG122, referentes aos períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado

Teor de água (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	9,7	13,0	12,5	14,9	14,4	14,1
L2	9,7	12,7	13,3	14,8	15,0	13,6
L3	10,0	13,3	13,9	14,8	15,2	13,3
L4	9,5	13,2	14,5	14,7	15,5	14,8
CV (%)						
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	86 Aa	82 Ab	82 Aa	78 Aa	78 Aa	55 Bb
L2	91 Aa	93 Aa	75 Ba	80 Ba	77 Ba	81 Ba
L3	85 ABa	91 Aab	85 ABa	85 ABa	85 ABa	81 Ba
L4	85 ABa	88 Aab	84 ABa	86 ABa	81 ABa	72 Ba
CV (%)	6,5	5,3	5,8	6,3	6,2	5,4
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	98 Aa	96 Aa	90 ABa	90 ABa	90 ABa	86 Ba
L2	98 Aa	94 Aa	92 Aa	96 Aa	92 Aa	92 Aa
L3	98 Aa	96 Aa	92 Aa	90 Aa	88 Aa	92 Aa
L4	90 Aa	94 Aa	88 Aa	92 Aa	92 Aa	88 Aa
CV (%)	2,6	1,8	2,0	2,8	2,8	2,6

Germinação (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	99 Aa ¹	96 Ba	92 BCa	93 BCa	84 CDa	75 Db
L2	98 Aa	97 Aa	92 ABa	94 ABa	91 ABa	85 Bab
L3	99 Aa	96 ABa	97 ABa	96 ABa	90 BCa	85 Cab
L4	100 Aa	93 Ba	92 Ba	92 Ba	88 Ba	86 Ba
CV (%)	4,6	5,8	6,2	4,7	5,2	5,7
Frio com terra (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	92 Aa	86 Aab	85 Aa	89 Aa	89 Aab	83 Aab
L2	95 Aa	92 Aa	92 Aa	92 Aa	93 Aa	89 Aa
L3	94 Aa	90 Aa	87 ABa	89 ABa	85 ABab	77 Bb
L4	80 Ab	78 Ab	72 Ab	74 Ab	77 Ab	77 Ab
CV (%)	6,5	6,2	6,2	5,2	7,3	6,5
Condutividade elétrica (µmhos/cm/g sementes)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	19 Ac	21 Ac	19 Ac	18 Ac	18 Ac	20 Ac
L2	14 Aab	14 Aab	13 Aab	14 Ab	13 Aab	13 Aab
L3	16 Abc	16 Ab	14 Ab	14 Ab	16 Abc	16 Ab
L4	11 Aa	12 Aa	10 Aa	10 Aa	10 Aa	11 Aa
CV (%)	10,6	9,8	6,1	8,9	13,1	8,2

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Pela análise do teste de frio com terra, observa-se qualidade inferior para o lote 4 na maioria dos períodos de envelhecimento acelerado.

O teste de emergência de plântulas em campo não revelou diferença estatística entre os lotes analisados.

No teste de condutividade elétrica, a partir do 1º período (0h) de envelhecimento acelerado, constatou-se diferença estatística entre os lotes, que persistiram até o último período (120h). Diferença esta que revelou, o lote 1 como de qualidade inferior, os lotes 2 e 3 como de qualidade intermediária e o lote 4 como de qualidade superior.

Portanto, pode-se verificar que na maioria dos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes, o lote 1 revelou-se como lote de qualidade inferior aos demais lotes analisados e os lotes 4 e 2 se revezaram na posição de lote de qualidade superior. Resultados que foram parcialmente confirmados quando se realizou a análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em função das classificações estatísticas em cada teste (Tabela 11), comprovando assim, a qualidade inferior do lote 1 em relação aos demais, e a qualidade superior do lote 2, seguido do lote 4.

Tabela 11. Ordenação geral dos lotes de sementes de milho, híbrido AG122, a partir de pontuações oriundas das classificações estatísticas no conjunto de testes de vigor (envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica).

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	- 01	- 03	- 02	- 01	- 02	- 03
L2	+ 02	+ 03	+ 02	+ 01	+ 02	+ 03
L3	+ 00	+ 01	+ 01	+ 01	- 01	+ 00
L4	+ 01	+ 01	+ 01	+ 01	+ 01	+ 02

Ao se analisar o comportamento dos lotes de sementes em relação aos diferentes períodos de permanência das sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado, verifica-se pela análise da Tabela 10, que o lote 1, no teste de germinação, apresentou, de maneira geral, um declínio na germinação à medida que os períodos aumentavam. No teste de envelhecimento acelerado o mesmo declínio foi verificado, constatando-se diferença estatística no período 120h; resultados semelhantes foram observados no teste de emergência de plântulas em campo, no qual o período 120h diferenciou-se dos períodos 0h e 24h. Os testes de frio e de condutividade elétrica, não revelaram diferença estatística entre os diferentes períodos analisados.

O comportamento do lote 2 no parâmetro germinação, revelou o período de 120h como único a apresentar declínio na germinação, estatisticamente comprovada, em relação aos períodos 0h e 24h. O mesmo comportamento não foi observado ao se analisar o teste de envelhecimento acelerado, em que o declínio de qualidade começou a ser observado a partir do período de 48h. Tanto, os teste de frio, de emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica, não foram sensíveis o suficiente para constatar diferenças entre os períodos.

Para o lote 3, observa-se ao se analisar o parâmetro germinação, que a partir do período 96h houve declínio na germinação em relação ao período 0h. No teste de envelhecimento acelerado diferença estatística foi observada entre os períodos 24h e 120h, onde no período 120h foi revelado como de menor qualidade das sementes. O teste de frio apresentou comportamento semelhante ao observado no teste de envelhecimento acelerado, sendo que o período de 120h diferiu dos períodos 0h e 24h. Os testes de emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica, não foram sensíveis o suficiente para constatar diferença entre os períodos de envelhecimento .

O lote 4 no teste de germinação, apresentou diferença estatística em relação a testemunha (0h), a partir do período de 24h. Ao se analisar o teste de envelhecimento acelerado, observa-se comportamento semelhante ao verificado no lote 3, em que o período de 120h foi o único a apresentar declínio de qualidade em relação ao período 24h. Os testes de frio, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica, não foram sensíveis o suficiente para constatar diferença entre os períodos.

Observa-se então, que para este híbrido (AG122), poucos foram os testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes que revelaram sensibilidade após os diferentes períodos de permanência das sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado e, quando apresentavam, eram observadas apenas nos maiores períodos.

Verifica-se também que, apesar do lote 2 ter sido considerado um dos lotes de qualidade superior em relação aos demais, este apresentou maior incidência de fungos nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, principalmente de *Fusarium moniliforme* (Tabela 12). Portanto, as prováveis transformações degenerativas em sementes de milho em resposta a infecção por *Fusarium moniliforme* observadas por Wetzell (1987) e Cordeiro et al. (1992), não foram observadas na presente pesquisa, possivelmente devido ao estágio inicial e baixo nível de infecção que as sementes apresentaram.

Em relação à análise eletroforética, pode ser observado, pelas Tabelas 13, 14 e 15, comportamento semelhante ao observado no híbrido AG9014, no qual os perfis eletroforéticos das enzimas peroxidase e fosfatase ácida, apresentaram diminuição do número e/ou intensidade das bandas com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado. Por outro lado, a enzima malato desidrogenase não apresentou alterações nos seus perfis eletroforéticos com o aumento do período de envelhecimento acelerado.

Tabela 12. Análise sanitária das sementes após desinfecção: dados (%) da incidência de fungos detectada nos tratamentos (períodos de envelhecimento acelerado) em sementes dos lotes de milho, híbrido AG122.

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1						
<i>A. alternata</i>	2,5	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus spp.</i>	6,3	16,3	0	0	1,3	0
<i>C. acremonium</i>	3,8	0	1,3	0	3,8	1,3
<i>C. graminicola</i>	0	0	0	0	1,3	0
<i>Epicoccum sp.</i>	5,0	6,3	1,3	3,8	3,8	17,5
<i>F. moniliforme</i>	5,0	2,5	5,0	7,5	3,8	8,8
<i>Rhizopus sp.</i>	22,5	11,3	0	2,5	0	5,0
L2						
<i>Aspergillus spp.</i>	0	1,3	0	0	0	2,5
<i>C. acremonium</i>	8,8	2,5	1,3	3,8	6,3	6,3
<i>Epicoccum sp.</i>	5,0	1,3	0	0	2,5	0
<i>F. moniliforme</i>	22,5	28,8	22,5	15,0	20,0	21,3
<i>Rhizopus sp.</i>	0	0	0	0	1,25	2,5
L3						
<i>A. alternata</i>	2,5	1,3	0	0	0	1,3
<i>Aspergillus spp.</i>	0	1,3	0	0	1,3	1,3
<i>C. acremonium</i>	0	0	2,5	3,8	10,0	0
<i>Epicoccum sp.</i>	2,5	2,5	0	1,3	8,8	11,3
<i>F. moniliforme</i>	30,0	12,5	23,8	18,8	21,3	20,0
<i>Rhizopus sp.</i>	0	0	0	0	1,3	0
L4						
<i>A. alternata</i>	3,8	2,5	0	0	2,5	3,8
<i>C. acremonium</i>	1,3	0	2,5	1,3	1,3	1,3
<i>Cladosporium sp.</i>	0	1,3	0	0	0	0
<i>Epicoccum sp.</i>	3,8	5,0	1,3	1,3	1,3	3,8
<i>F. moniliforme</i>	6,3	0	5,0	6,3	8,8	1,3
<i>Rhizopus sp.</i>	1,3	8,8	0	1,3	0	0

Tabela 13. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima malato desidrogenase (MDH), de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

MDH	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamentos	0,46	0,48	0,53	0,56	0,58							
0h de EA												
lote 1	= ¹	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
24h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
48 de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
72h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
96h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
120h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 14. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da Isoenzima fosfatase ácida (FA), de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

FA	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamentos	0,03	0,08										
0h de EA												
lote 1	= ¹	=										
lote 2	*	*										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
24h de EA												
lote 1	=	=										
lote 2	*	*										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
48 de EA												
lote 1	=	=										
lote 2	*	*										
lote 3	*	*										
lote 4	*	*										
72h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
96h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
120h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 15. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima peroxidase (PRX), de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

PRX	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Valores de Rf												
Tratamentos	0,03	0,08				0,21	0,28	0,33	0,37	0,45		
0h de EA												
lote 1	= ¹	=	x	x	x	*	=	=	=	x	x	
lote 2	=	=	x	x	x	*	=	=	=	x	x	
lote 3	=	=	x	x	x	=	=	+	=	x	x	
lote 4	=	=	x	x	x	*	=	=	=	x	x	
24h de EA												
lote 1	=	=	x	x	x	*	=	=	=	x	x	
lote 2	=	=	x	x	x	*	=	=	=	x	x	
lote 3	=	=	x	x	x	=	=	+	=	x	x	
lote 4	=	=	x	x	x	*	=	=	=	x	x	
48h de EA												
lote 1	=	=	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
lote 2	=	=	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
lote 3	=	=	x	x	x	=	=	+	=	x	x	
lote 4	=	=	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
72h de EA												
lote 1	*	*	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
lote 2	*	*	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
lote 3	*	*	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
lote 4	*	*	x	x	x	=	=	=	=	x	x	
96h de EA												
lote 1	*	x	x	x	x	=	=	=	=	=	x	
lote 2	*	x	x	x	x	=	=	=	=	=	x	
lote 3	*	x	x	x	x	=	=	=	=	=	x	
lote 4	*	x	x	x	x	=	=	=	=	=	x	
120h de EA												
lote 1	x	x	x	x	x	=	=	=	=	*	x	
lote 2	x	x	x	x	x	=	=	=	=	*	x	
lote 3	x	x	x	x	x	=	=	=	=	*	x	
lote 4	x	x	x	x	x	=	=	=	=	*	x	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

A fosfatase ácida, uma das enzimas que apresentaram decréscimo no número e ou intensidade de bandas com o envelhecimento acelerado, como pode ser observado pela Tabela 14, revelou redução de intensidade das bandas nos períodos 0h, e 24h de envelhecimento acelerado para o lote 2, considerado pelos testes determinantes da qualidade fisiológica como um dos lotes de qualidade superior em relação aos outros lotes analisados, contrariando o que foi observado no híbrido AG9014, em que a redução de intensidades das bandas foi verificada no lote de qualidade inferior.

No período 48h de envelhecimento acelerado, a redução de intensidade das bandas foi, também, observada nos lotes 2, 3 e 4. Já o desaparecimento por completo das referidas bandas foi constatado para todos os lotes a partir do período 72h de envelhecimento acelerado, fato que foi observado também no híbrido AG9014.

Pela análise da Tabela 15, pode ser observado também, uma mudança nos perfis eletroforéticos da isoenzima peroxidase com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado das sementes. No período 0h, 24h e 48h de envelhecimento acelerado foi observado que os padrões das primeiras bandas da isoenzima peroxidase, revelaram-se semelhantes para os diferentes lotes. A partir do período 72h de envelhecimento acelerado, houve diminuição da intensidade da coloração dessas bandas, que desapareceram por completo no período 120h.

A atividade da peroxidase, como no híbrido AG9014, correlacionou-se parcialmente com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes.

Em relação aos perfis eletroforéticos de proteínas totais, referentes aos extratos de sementes secas de milho que foram submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, pode ser observado pelas Tabelas 16a e 16b, que o número de bandas foi mantido, havendo o desaparecimento de três bandas, que diferiram quanto a posição entre os períodos (0, 24, 48h) e

(72,96 e 120h). Estes resultados estão em desacordo com, Basavarajappa et al. (1991), Varier e Dadlani (1992) e Vieira (1996), que encontraram decréscimo no número de bandas nos perfis eletroforéticos das proteínas de sementes envelhecidas artificialmente.

Portanto, para este híbrido (AG122), verifica-se que as alterações nos perfis isoenzimáticos (fosfatase ácida e peroxidase) detectados nas sementes a partir do período 72h de envelhecimento acelerado, revelaram o provável efeito deteriorativo provocado pela exposição das sementes às condições do teste de envelhecimento acelerado, independentemente da qualidade do lote, apesar da maioria dos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes não terem sido sensíveis o suficiente para detectar o efeito deteriorativo provocado pelo envelhecimento acelerado e quando detectado era observado apenas nos maiores períodos.

Tabela 16a.Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

Número de bandas																								
Prot. Total	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Valores de Rf																								
Tratamentos	0,02	0,04	0,07	0,10	0,12	0,15	0,18	0,22	0,23	0,25	0,27	0,29	0,35	0,38	0,42	0,44	0,50	0,54	0,59	0,63	0,71	0,77	0,87	
0h de EA																								
lote 1	= ¹	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
24h de EA																								
lote 1	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
48 de EA																								
lote 1	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	X	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 16b.Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

Número de bandas																							
Prot. Total	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Valores de Rf																							
Tratamentos	0,02	0,04	0,07	0,10	0,12	0,15	0,18	0,22	0,23	0,25	0,27	0,29	0,35	0,38	0,42	0,44	0,50	0,54	0,59	0,63	0,71	0,77	0,87
72h de EA																							
lote 1	X ¹	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
96h de EA																							
lote 1	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
120h de EA																							
lote 1	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	X	=	=	=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

4.1.3 Híbrido AG5011

Analisando-se o teor de água inicial das sementes antes do envelhecimento acelerado, período 0h (Tabela 17), pode-se constatar relativa uniformidade do grau de umidade entre os lotes, o que é considerado, como já visto, uma premissa para se obter resultados confiáveis neste teste.

Tabela 17. Valores médios dos teores de água (%) das sementes de milho, híbrido AG5011, após os períodos de envelhecimento acelerado.

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	10,8	16,3	18,3	19,9	21,2	20,3
L2	11,0	16,6	18,7	20,1	22,1	21,1
L3	10,4	15,9	18,2	20,3	21,3	21,2
L4	10,6	16,1	18,1	20,0	20,2	20,3

Após a exposição das sementes aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, observou-se, como nos híbrido anteriores, aumento nos teores de água à medida em que os períodos aumentavam, tendendo, também, à estabilização nos últimos períodos de permanência na câmara. Isto levou, a necessidade de uniformização dos teores de água nos diferentes períodos, para se proceder as avaliações fisiológicas comparativas entre os períodos. Após a uniformização do teor de água das sementes, as mesmas permaneceram na faixa de 10,4 a 15,9% (Tabela 18).

Pela análise da Tabela 18, pode-se observar que as diferenças estatísticas entre os lotes apresentadas pelo teste de germinação, envelhecimento acelerado, frio e emergência de plântulas em campo, não foram consistentes nos períodos analisados; entretanto, em valores absolutos, de maneira geral, o lote 3 revelou-se quase sempre como o de qualidade inferior. Por outro lado, o teste de condutividade elétrica, a partir do período de 48h de envelhecimento acelerado, revelou o lote 2 como de qualidade inferior.

Tabela 18. Valores médios do teor de água das sementes após uniformização e dos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes de milho, híbrido AG5011, referentes aos períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado

Teor de água (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	10,8	15,3	14,3	13,1	14,3	10,7
L2	11,0	15,6	15,0	14,4	15,9	12,0
L3	10,4	14,9	14,6	13,7	15,1	11,8
L4	10,5	15,1	14,0	13,8	14,0	09,6
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	95 ABCa	92 BCa	96 Aa	92 ABa	90 Ca	90 Ca
L2	89 Aa	88 Aab	94 Aa	92 Aa	90 Aa	91 Aa
L3	91 Aa	81 ABb	86 ABb	80 ABb	80 ABb	78 Bb
L4	91 ABa	91 ABa	96 Aa	88 Bab	87 Bab	87 Bab
CV (%)	8,3	3,9	4,1	6,2	4,0	5,8
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	98 Aa	92 Aab	96 Aa	94 Aab	94 Aa	92 Aab
L2	94 Aa	94 Aab	92 Aab	96 Aab	94 Aa	95 Aa
L3	94 Aa	88 Ab	86 Ab	88 Ab	86 Ab	86 Ab
L4	96 ABa	96 ABa	94 ABab	96 Aa	90 ABab	90 Bab
CV (%)	2,2	2,6	3,5	2,3	1,8	2,8

Germinação (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	95 Aa ¹	94 Aa	91 Aab	90 Aa	90 Aab	88 Aa
L2	94 Aa	91 ABa	89 ABab	93 Aa	92 Aa	84 Ba
L3	86 Aa	90 Aa	82 Ab	91 Aa	86 Aab	89 Aa
L4	88 ABCa	92 ABa	92 Aa	92 ABa	83 Cb	85 BCa
CV (%)	5,8	3,3	5,2	6,5	4,9	5,5
Frio com terra (%)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	95 Aa	95 Aa	86 Aab	88 Aab	90 Aab	93 Aa
L2	96 Aa	93 Aa	91 Aa	88 Aab	93 Aa	94 Aa
L3	82 Ab	77 Ab	72 Ab	78 Ab	78 Ab	78 Ab
L4	92 Aa	89 Aab	94 Aa	91 Aa	88 Aab	89 Aab
CV (%)	4,3	7,2	8,3	7,8	5,9	8,4
Condutividade elétrica (µmhos/cm/g sementes)						
lotes	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	20 Aa	19 Aa	18 Aa	16 Aa	18 Aab	17 Aa
L2	23 Aa	23 Aa	25 Ab	24 Ab	23 Ab	22 Ab
L3	20 BCa	21 Ca	18 ABCa	16 Aa	16 Aa	17 ABa
L4	22 BCa	23 Aa	18 ABa	19 ABCa	17 Aa	18 ABa
CV (%)	10,6	9,9	6,2	9,0	13,1	8,2

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

A qualidade inferior do lote 3 foi confirmada, quando se realizou a análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em função das classificações estatísticas em cada teste (Tabela 19).

Tabela 19. Ordenação geral dos lotes de sementes de milho, híbrido AG5011, a partir de pontuações oriundas das classificações estatísticas no conjunto de testes de vigor (envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica).

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1	+ 01	+ 02	+ 03	+ 02	+ 02	+ 03
L2	+ 02	+ 01	+ 02	- 00	+ 02	+ 02
L3	- 01	- 03	- 02	- 02	- 02	- 02
L4	+ 01	+ 02	+ 03	+ 03	+ 01	+ 01

Ao se analisar o comportamento dos lotes de sementes em relação aos diferentes períodos de permanência das sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado, verifica-se pela análise das Tabela 18 que, para o lote 1, o único teste que revelou diferença estatística entre os períodos de envelhecimento acelerado foi o teste de envelhecimento acelerado, no qual, foi constatado nos períodos 96h e 120h uma menor qualidade das sementes em relação a verificada nos períodos 48h e 72h.

Para o lote 2, o único parâmetro a revelar diferença estatística entre os períodos de envelhecimento acelerado, foi o teste de germinação, no qual o período 120h apresentou um declínio de germinação em relação aos períodos 0h, 72h e 96h.

No lote 3, os parâmetros que revelaram diferença estatística entre os diferentes períodos de envelhecimento acelerado foram os testes de envelhecimento acelerado, em que apenas no período 120h constatou-se

declínio de qualidade em relação ao período 0h, e o de condutividade elétrica, em que a partir do período 72h constatou-se aumento de qualidade em relação ao período 24h; os períodos 72h e 96h, também apresentaram qualidade superior à constatada no período 0h.

Por outro lado, para o lote 4, a menor germinação obtida a partir do período 96h diferiu da germinação do período 48h, sendo que, a menor germinação verificada no período 96h também diferiu do período 24h; no parâmetro envelhecimento acelerado a menor qualidade das sementes foi constatada a partir do período 72h em relação ao período 48h; na condutividade elétrica, o período 96h revelou aumento de qualidade das sementes em relação ao período 0h, sendo que, a menor qualidade constatada no período 0h, também diferiu da obtida no período 24h.

Observa-se então que, para este híbrido (AG5011), apenas os testes de envelhecimento acelerado para os lotes 1, 3 e 4 e de condutividade elétrica para os lotes 3 e 4, revelaram sensibilidade após os diferentes períodos de permanência das sementes às condições do teste de envelhecimento acelerado. No teste de condutividade elétrica, o aumento dos períodos de exposição das sementes às condições do teste de envelhecimento revelaram diminuição na quantidade de eletrólitos lixiviados.

Verifica-se também, pela Tabela 20 que todos os lotes apresentaram baixo de incidência de fungos

Em relação à análise eletroforética, pode ser observado, pelas Tabelas 21, 22 e 23 comportamento semelhante ao observado nos híbridos simples (AG9014) e duplo (AG122), no qual os perfis eletroforéticos das enzimas peroxidase e fosfatase ácida, apresentaram diminuição do número e/ou intensidade das bandas com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado. Por outro lado, a enzima malato desidrogenase não apresentou alterações nos seus perfis eletroforéticos com o aumento do período de envelhecimento acelerado.

Tabela 20. Análise sanitária das sementes após desinfecção: dados (%) da incidência de fungos detectadas nos tratamentos (períodos de envelhecimento acelerado) em sementes dos lotes de milho, híbrido AG 5011

LOTES	Períodos de Envelhecimento					
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
L1						
<i>A. alternata</i>	1,3	--	3,8	1,3	--	2,5
<i>Aspergillus spp.</i>			1,3			
<i>Rhizopus sp.</i>	1,3	--	3,8	--	--	--
L2						
<i>A. alternata</i>	--	--	2,5	--	--	2,5
<i>C. acremonium</i>	1,3	1,3	--	--	--	--
<i>Rhizopus sp.</i>	--	1,3	--	1,5	3,8	6,3
L3						
<i>A. alternata</i>	2,5	2,5	12,5	--	--	8,8
<i>Rhizopus sp.</i>	1,3	5,0	6,3	--	--	7,5
L4						
<i>C. acremonium</i>	2,5	--	--	--	--	--
<i>Epicoccum sp.</i>	--	--	--	1,3	--	--
<i>F. moniliforme</i>	1,3	--	--	--	--	--
<i>Rhizopus sp.</i>	6,3	6,3	2,5	2,5	26,3	3,8

Tabela 21. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da Isoenzima malato desidrogenase (MDH), de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

MDH	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamentos	0,45	0,50	0,53	0,56	0,63							
0h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
24h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
48 de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
72h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
96h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
120h de EA												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 22. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima fosfatase ácida (FA), de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

FA	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamentos	0,44	0,48										
0h de EA												
lote 1	= ¹	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
24h de EA												
lote 1	=	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
48h de EA												
lote 1	=	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
72h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
96h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
120h de EA												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 23. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima peroxidase (PRX), de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

PRX	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamentos	Valores de Rf											
	0,01	0,04	0,07			0,18	0,21	0,26	0,32	0,37	0,39	
0h de EA												
lote 1	* ¹	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
24h de EA												
lote 1	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
48h de EA												
lote 1	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	*	*	*	X	X	=	=	=	=	=	=	=
72h de EA												
lote 1	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 2	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 3	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 4	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
96h de EA												
lote 1	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 2	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 3	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 4	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
120h de EA												
lote 1	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 2	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 3	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X
lote 4	*	*	X	X	X	X	=	=	X	X	X	X

1 (= presença de banda, banda de menor intensidade, banda de maior intensidade, X ausência de banda)

A fosfatase ácida, como pode ser observado pela análise da Tabela 22, apresentou decréscimo no número de bandas a partir do período 72h de envelhecimento acelerado, independentemente da qualidade dos lotes, fato que foi observado, também, no híbrido simples (AG9014) e duplo (AG122).

Pela análise da Tabela 23, pode ser observado, uma mudança nos perfís eletroforéticos da isoenzima peroxidase com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado das sementes. Nos períodos de envelhecimento acelerado foi observado que os padrões das bandas da isoenzima peroxidase, revelaram-se semelhantes para os diferentes lotes. A partir do período 72h de envelhecimento acelerado, houve o desaparecimento de 5 bandas (3^a, 6^a, 9^a, 10^a e 11^a).

Em relação aos perfís eletroforéticos de proteínas totais, referentes aos extratos de sementes secas de milho que foram submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, pode ser observado pelas Tabelas 24a e 24b, que apenas a partir do período 72h, foi constatado, para todos os lotes o desaparecimento de sete bandas (3^o, 4^a, 5^a, 7^a, 8^a, 12^a e 13^a) Estes resultados estão de acordo com os obtidos no híbrido simples (AG9014) e duplo (AG122), em que foi constatado decréscimo no número de bandas nos perfís eletroforéticos das proteínas totais com o aumento dos períodos de envelhecimento artificial.

Portanto, para este híbrido (AG5011), verifica-se que as alterações nos perfís isoenzimáticos (fosfatase ácida e peroxidase) e protêicos detectados nas sementes a partir do período 72h de envelhecimento acelerado, revelaram o provável efeito deteriorativo provocado pela exposição das sementes às condições do teste de envelhecimento acelerado, independentemente da qualidade do lote, apesar da maioria dos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes, não terem sido sensíveis o suficiente para detectar o efeito deteriorativo provocado pelo envelhecimento acelerado.

Tabela 24a.Ocorrências (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG 5011, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

Número de bandas																					
Prot. Total	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Valores de Rf																					
Tratamentos	0,03	0,09	0,14	0,18	0,19	0,24	0,25	0,28	0,31	0,33	0,36	0,40	0,41	0,44	0,52	0,54	0,58	0,62	0,69	0,79	
0h de EA																					
lote 1	= ¹	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
24h de EA																					
lote 1	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 2	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
48 de EA																					
lote 1	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 2	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 3	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 24b.Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG 5011, referentes aos diferentes períodos de permanência das mesmas nas condições do teste de envelhecimento acelerado (EA).

		Número de bandas																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Valores de Rf		0,03	0,09	0,14	0,18	0,19	0,24	0,25	0,28	0,31	0,33	0,36	0,40	0,41	0,44	0,52	0,54	0,58	0,62	0,69	0,79	
Tratamentos																						
72h de EA																						
lote 1	x ¹	=	x	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	
lote 2	x	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 3	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 4	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
96h de EA																						
lote 1	x	=	x	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	
lote 2	x	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 3	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 4	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
120h de EA																						
lote 1	=	=	x	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	
lote 2	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 3	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	
lote 4	=	=	x	x	x	=	x	x	=	=	=	x	x	=	=	=	=	=	=	=	=	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

4.2 Períodos de Armazenamento

4.2.1 Híbrido AG9014

As condições sob as quais as sementes foram armazenadas revelaram variações de temperatura e umidade relativa do ar normais para o local e região (anexo:A1). Essas condições determinaram os teores de água das sementes durante o período de armazenamento, que permaneceram na faixa de 9,2 a 11,7 (Tabela 25), considerada adequada para o armazenamento de sementes de milho em ambiente não controlado. Além disso, é considerada baixa para o desenvolvimento da maioria dos agentes fitopatogênicos que atuam na deterioração das sementes, o que provavelmente justifica, juntamente com a eficiência do tratamento fungicida, a baixa incidência de fungos encontrados nas sementes (Tabela 26).

Analisando-se os testes utilizados para detectar diferenças na qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento (Tabela 25), pode-se observar que as diferenças estatísticas apresentadas entre os lotes, após 4, 8 e 12 meses de armazenamento, mantiveram, na maioria dos testes, o lote 4 como lote de qualidade inferior aos demais e o lote 1, como de qualidade intermediária. Resultados estes, comprovados na análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em função das classificações estatísticas em cada teste (Tabela 27).

Tabela 25. Grau de umidade, germinação, envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica (CE) das sementes de milho, híbrido AG9014, após 0 (E1), 4 (E2), 8 (E3) e 12 (E4) meses de armazenamento sob condições de ambiente não controlado.

Grau de umidade (%)					Germinação (%)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	10,3	11,7	9,9	9,6	L1	97Aa ¹	92Aa	72Bb	66Ca
L2	10,4	11,7	9,7	9,6	L2	97Aa	93Aa	86Bab	69Ca
L3	10,0	11,6	9,3	9,3	L3	97Aa	97Aa	92Aa	76Ba
L4	11,6	11,6	9,2	9,2	L4	87Ab	56Bb	30Cc	07Db
CV (%)					CV (%)	5,9	6,0	9,3	9,3

Envelhecimento acelerado (%)					Frio com terra (%)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	91Aa	63Bb	53Ca	43Db	L1	89Ab	33Bb	25Ca	11Da
L2	97Aa	97Aa	53Ca	69Ba	L2	99Aa	59Ba	30Ca	12Da
L3	95Aa	92Aa	57Ca	71Ba	L3	98Aa	59Ba	32Ca	14Da
L4	66Ab	33Bc	01Cb	01Cc	L4	70Ac	11Bc	02Cb	00Cb
CV (%)	8,7	11,2	8,4	10,9	CV (%)	7,1	11,2	20,3	6,5

Emergência de plântulas em campo (%)					CE (µmho/cm/g sementes)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	95Aa	89Aab	70Bb	20Cb	L1	18Aa	20Bb	29Cb	31Db
L2	99Aa	97Ba	91Ba	30Ca	L2	16Aa	18Aab	23Ca	26Da
L3	100Aa	97Aa	84Ba	28Ca	L3	15Aa	16Aa	22Ca	24Da
L4	78Ab	71Ab	33Bc	03Cc	L4	23Ab	27Bc	36Cc	39Dc
CV (%)	2,4	8,7	7,7	8,2	CV (%)	8,9	7,8	6,0	5,2

¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 26. Análise sanitária das sementes após desinfecção: dados (%) da incidência de fungos detectada nos tratamentos (períodos de armazenamento) em sementes de milho, híbrido AG9014

Patógenos	Meses de armazenamento		
	4	8	12
Lote 1			
<i>Penicillium spp.</i>	0	0	2
Lote 2			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	4
Lote3			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	3
<i>F. moniliforme</i>	4	0	0
<i>Penicillium spp.</i>	0	2	6
Lote 4			
<i>F. moniliforme</i>	0	0	3

Tabela 27. Ordenação geral dos lotes de sementes de milho, híbrido AG9014 a partir de pontuações oriundas das classificações estatísticas no conjunto de testes de vigor (envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica)

LOTES	Períodos de armazenamento			
	0 meses	4 meses	8 meses	12 meses
L1	+ 10	+ 01	+ 02	+ 02
L2	+ 11	+ 07	+ 07	+ 08
L3	+ 11	+ 08	+ 07	+ 08
L4	- 05	- 08	- 08	- 08

Pela análise da tabela 25, observa-se também que a queda do poder germinativo das sementes ao longo do período de armazenamento foi constatada, após 4 meses de armazenamento, apenas para o lote 4, considerado o lote de menor qualidade. Aos 8 meses de armazenamento, o único lote que não apresentou decréscimo significativo no poder germinativo foi o lote 3. Já, aos 12 meses de armazenamento a queda do poder germinativo foi observada em todos os lotes.

Por outro lado, nos testes de vigor, com exceção do teste de frio, verificou-se que após 4 meses de armazenamento os lotes 2 e 3 mantiveram a sua qualidade. Já, a partir do oitavo mês de armazenamento, todos os lotes apresentaram queda na sua qualidade fisiológica.

Em relação à análise eletroforética, pode ser observado pelas Tabelas 28, 29 e 30 que dentre as enzimas avaliadas, as enzimas peroxidase e fosfatase ácida, apresentaram alterações do número e/ou intensidade das bandas com o aumento do tempo de armazenamento. Por outro lado, a enzima malato desidrogenase não apresentou alterações nos seus perfis eletroforéticos com o aumento deste período. Comportamento semelhante foi observado ao se analisar o efeito dos períodos de envelhecimento acelerado.

A fosfatase ácida, uma das enzimas que apresentaram alterações no número e ou intensidade de bandas com o aumento do período de armazenamento, como pode ser observado pela Tabela 29, apresentou redução da intensidade de bandas nos período de 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento para o lote 4, e nos períodos de 6 e 8 meses para o lote 1, considerados, respectivamente, pelos testes determinantes da qualidade fisiológica como lotes de qualidades inferior e intermediária em relação aos outros lotes analisados. Já o desaparecimento por completo das referidas bandas, foi constatado para todos os lotes a partir do 10º mês de armazenamento.

A mesma diminuição de intensidade de bandas, observada aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento para o lote 4, foi verificada nos períodos 0, 24 e 48h de envelhecimento acelerado. O desaparecimento por completo das referidas bandas, em todos os lotes, a partir do 10º mês de armazenamento foi verificado também a partir do período de 72 horas de envelhecimento acelerado. Portanto, a atividade dessa enzima, como no envelhecimento acelerado, correlacionou-se com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes.

Tabela 28. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima malato desidrogenase (MDH), de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

MDH	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamientos	0,44	0,48	0,50	0,56								
2 mese												
lote 1	= ¹	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
4 meses												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
6 meses												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
8 meses												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
10 meses												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								
12 meses												
lote 1	=	=	=	=								
lote 2	=	=	=	=								
lote 3	=	=	=	=								
lote 4	=	=	=	=								

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 29. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima fosfatase ácida (FA), de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

FA	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamentos	0,05	0,55										
2 mese												
lote 1	* ¹	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
4 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
6 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
8 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
10 meses												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										
12 meses												
lote 1	x	x										
lote 2	x	x										
lote 3	x	x										
lote 4	x	x										

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 30. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima peroxidase (PRX), de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

PRX	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
Tratamentos	0,01	0,06	0,11	0,14	0,27	0,31	0,37	0,40	0,42	0,46	0,50	
2 mese												
lote 1	= ¹	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	
4 meses												
lote 1	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
lote 2	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
lote 3	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
lote 4	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
6 meses												
lote 1	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
lote 2	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
lote 3	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
lote 4	=	=	=	X	=	=	=	X	X	X	X	
8 meses												
lote 1	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 2	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 3	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 4	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
10 meses												
lote 1	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 2	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 3	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 4	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
12 meses												
lote 1	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 2	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 3	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	
lote 4	=	=	=	X	=	=	=	*	*	*	*	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Pela Tabela 30, pode ser observado também uma mudança nos perfis eletroforéticos da isoenzima peroxidase com o aumento do tempo de armazenamento das sementes. Nos períodos de armazenamento os padrões das primeiras bandas desta isoenzima, revelaram-se inalterados para os diferentes lotes. Aos 2 meses de armazenamento foi observado a ausência da 9ª banda, verificado também nos períodos de envelhecimento acelerado. No 4º e 6º mês de armazenamento, mais 4 bandas desapareceram (4ª, 8ª, 10ª e 11ª). A partir do 8º mês de armazenamento, a 8ª, 9ª, 10ª e 11ª bandas ressurgiram em menor intensidade.

A atividade dessa enzima, pela ausência da 4ª banda a partir do 4º mês, correlacionou-se com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes, confirmando o observado no envelhecimento acelerado.

Em relação aos perfis eletroforéticos de proteínas totais, referentes aos extratos de sementes secas de milho submetidas aos diferentes períodos de armazenamento, pode ser observado pelas Tabelas 31a e 31b, que entre as diferenças apresentadas pelos perfis eletroforéticos dos distintos períodos de armazenameto, apenas a partir do 8º mês de armazenamento foi revelada certa constância do desaparecimento de sete bandas (1ª, 4ª, 5ª, 12ª, 13ª, 21ª e 23ª) para todos os lotes. Resultado semelhante, do decréscimo no número de bandas nos perfis eletroforéticos das proteínas foi observado ao se analisar as sementes envelhecidas aceleradamente. Entretanto, Reuzea et al. (1992) e Dadlani (1992), observaram que em sementes de girasol e de algodão, respectivamente, as proteínas não foram afetadas pelo envelhecimento sob condições não controladas.

Assim, para este híbrido (AG9014), verifica-se que as alterações detectadas nos perfis eletroforéticos da isoenzima fosfatase ácida até o 8º mês de armazenamento, distinguiram a qualidade dos lotes, da mesma forma que o apresentado pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes.

Já as alterações observadas nos períodos subsequentes e as detectadas nos perfís eletroforéticos da peroxidase após o 2º mês de armazenamento e de proteína total após o 10º mês, revelaram o efeito deteriorativo provocado pelo tempo de armazenamento sob condições não controladas, independentemente da qualidade dos lotes.

Tabela 31a. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

		Número de bandas																						
Prot. Total		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Valores de Rf																								
Tratamentos		0,04	0,06	0,09	0,10	0,11	0,13	0,15	0,19	0,24	0,26	0,30	0,33	0,34	0,39	0,40	0,42	0,46	0,48	0,55	0,59	0,62	0,67	0,72
2 mese																								
lote 1	= ¹	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	X	=	=	=	=	X	=	=	X
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	X	=	=	=	=	X	=	=	X
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	X	=	=	=	=	X	=	=	X
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	=	X	=	=	=	=	X	=	=	X
4 mese																								
lote 1	=	X	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	=	X	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	=	X	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	=	X	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
6 meses																								
lote 1	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X
lote 2	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X
lote 3	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X
lote 4	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 31b. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG9014, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

Número de bandas		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Prot. Total		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Valores de Rf		0,04	0,06	0,09	0,10	0,11	0,13	0,15	0,19	0,24	0,26	0,30	0,33	0,34	0,39	0,40	0,42	0,46	0,48	0,55	0,59	0,62	0,67	0,72
8 meses																								
lote 1	X ¹	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 2	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 3	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 4	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
10 meses																								
lote 1	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 2	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 3	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 4	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
12 meses																								
lote 1	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 2	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 3	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X
lote 4	X	=	=	X	X	X	=	=	=	=	=	=	X	X	=	=	=	=	=	=	X	=	X	X

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

4.2.2 Híbrido AG122

Assim como no híbrido simples (AG9014), as condições sob as quais as sementes deste híbrido foram armazenadas, revelaram variações de temperatura e umidade relativa do ar normais para o local e região (anexo:A1). Essas condições determinaram os teores de água das sementes durante o período de armazenamento, que permaneceram na faixa de 9,5 a 11,9 (Tabela 32), considerada adequada para o armazenamento de sementes de milho em ambiente não controlado. Além disso, é considerada baixa para o desenvolvimento da maioria dos agentes fitopatogênicos que atuam na deterioração das sementes, o que provavelmente justifica, juntamente com a eficiência do tratamento fungicida, a baixa incidência de fungos encontrados nas sementes (Tabela 33).

Analisando-se os testes utilizados para detectar diferenças na qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento (Tabela 32), pode-se observar que as diferenças estatísticas apresentadas entre os lotes, após 4, 8 e 12 meses de armazenamento, mantiveram, na maioria dos testes, o lote 1, como lote de qualidade inferior aos demais e o lote 2, como de qualidade superior. Resultado este, comprovado na análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em função das classificações estatísticas em cada teste (Tabela 34).

Tabela 32. Grau de umidade, germinação, envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica (CE) das sementes do híbrido AG122, após 0 (E1), 4 (E2), 8 (E3) e 12 (E4) meses de armazenamento sob condições de ambiente não controlado.

Grau de umidade (%)					Germinação (%)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	9,7	11,6	11,0	9,6	L1	99Aa ¹	91Ba	61Cb	32Db
L2	9,7	11,2	11,1	9,5	L2	98Aa	87Ba	76Ca	49Da
L3	10,0	11,8	11,0	9,5	L3	99Aa	92Ba	82Ca	49Da
L4	9,5	11,9	11,5	9,5	L4	100Aa	90Ba	73Ca	45Dab
CV (%)					CV (%)				
Envelhecimento acelerado (%)					Frio com terra (%)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	86Aa	55Bc	11Cc	08Db	L1	92Aa	25Bb	06Cb	03Ca
L2	91Aa	90Aa	37Ba	14Ca	L2	95Aa	41Ba	19Ca	07Da
L3	85Aa	81Ab	24Bb	12Ca	L3	94Aa	28Bab	10Cb	05Da
L4	85Aa	51Bc	16Cbc	05Db	L4	80Ab	27Bb	05Cb	00Ca
CV (%)					CV (%)				
Emergência de plântulas em campo (%)					CE (µmho/cm/g sementes)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	98Aa	89Ba	60Cb	12Db	L1	19Ac	23Bb	33Cc	33Cc
L2	98Aa	91Ba	74Ca	20Da	L2	14Aab	18Ba	24Ca	26Cb
L3	98Aa	89Ba	67Cab	14Dab	L3	16Abc	19Ba	27Cb	28Cb
L4	90Aa	91Aa	64Bab	11Cb	L4	11Aa	17Ba	20Ca	22Ca
CV (%)					CV (%)				

¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 33. Análise sanitária das sementes após desinfecção: dados (%) da incidência de fungos detectada nos tratamentos (períodos de armazenamento) em sementes de milho, híbrido AG122

Patógenos	Meses de armazenamento		
	4	8	12
Lote 1			
0	0	0	0
Lote 2			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	3	6
<i>F. moniliforme</i>	4	0	0
Lote3			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	4	6
<i>F. moniliforme</i>	2	0	0
Lote 4			
<i>Rhizopus sp.</i>	2	0	0

Tabela 34. Ordenação geral dos lotes de sementes de milho , híbrido AG122 a partir de pontuações oriundas das classificações estatísticas no conjunto de testes de vigor (envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica)

LOTES	Períodos de armazenamento			
	0 meses	4 meses	8 meses	12 meses
L1	- 1	- 5	- 6	- 3
L2	+ 2	+ 5	+ 6	+ 3
L3	+ 0	+ 1	+ 0	+ 2
L4	+ 1	- 2	+ 0	- 1

Pela análise da Tabela 32, observa-se que a queda do poder germinativo das sementes ao longo do período de armazenamento comportou-se de forma progressiva para todos os lotes.

Por outro lado, nos testes de vigor, verifica-se que após 4 meses de armazenamento, com exceção dos testes de envelhecimento acelerado, em que os lotes 2 e 3 mantiveram a sua qualidade e de emergência de plântulas em campo, em que o lote 4 apresentou o mesmo comportamento, todos os lotes revelaram queda na qualidade. Já a partir do oitavo mês de

armazenamento, todos os lotes, na maioria dos testes, apresentaram queda progressiva na sua qualidade fisiológica.

Em relação à análise eletroforética, pode ser observado pelas Tabelas 35, 36 e 37, que dentre as enzimas avaliadas, a peroxidase e fosfatase ácida, apresentaram alterações do número e/ou intensidade das bandas com o aumento do tempo de armazenamento. Por outro lado, a malato desidrogenase não apresentou alterações nos seus perfís eletroforéticos com o aumento deste período. Comportamento semelhante, foi observado ao se analisar as sementes do híbrido AG9014, nas mesmas condições de armazenamento e nas sementes deste híbrido (AG122) envelhecidas aceleradamente.

A fosfatase ácida, uma das enzimas que apresentaram alterações no número e ou intensidade das bandas com o aumento do período de armazenamento, como pode ser observado pela Tabela 36, apresentou redução de intensidade de bandas, ao longo do armazenamento (2 a 12 meses) para os lotes 1 e 3, considerados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica como lotes de inferior e intermediária qualidade em relação aos outros lotes analisados.

Portanto, a atividade da enzima fosfatase ácida, correlacionou-se, com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes quanto à classificação dos lotes. Fato este que não foi observado ao se analisar as sementes envelhecidas aceleradamente, porém semelhante ao observado até o 8º mês de armazenamento no híbrido simples (AG9014).

Pela análise da Tabela 37, pode ser observado também uma mudança nos perfís isoenzimáticos da peroxidase com o aumento do tempo de armazenamento das sementes. Nos períodos de armazenamento, os padrões das primeiras bandas da isoenzima peroxidase, revelaram-se semelhantes para os diferentes lotes. A diminuição da intensidade das referidas bandas, assim como ocorreu no período de 72 horas de envelhecimento acelerado, só

foi constatado a partir do 10º mês de armazenamento.

A atividade da peroxidase como no envelhecimento acelerado, correlacionou-se com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Resultado que também foi verificado ao se analisar o híbrido simples, nas mesmas condições de armazenamento.

Em relação aos perfis eletroforéticos de proteínas totais, referentes aos extratos de sementes secas de milho submetidas aos diferentes períodos de armazenamento, pode ser observado pelas Tabelas 38a e 38b, que entre as diferenças apresentadas pelos perfis eletroforéticos dos distintos períodos de armazenameto, a partir do 6º mês de armazenamento foi revelada certa constância no desaparecimento, para todos os lotes, de seis bandas (1ª, 5ª, 6ª, 21ª, 22ª e 23ª). Do 8º mês em diante esse número de bandas foi acrescido pelo desaparecimento de mais 4 bandas (4ª, 7ª, 15ª e 19ª). Resultado semelhante, quanto ao decréscimo de bandas nos perfis eletroforéticos das proteínas, foi observado ao se analisar as sementes do híbrido AG9014 nas mesmas condições de armazenamento, porém não verificadas nas sementes envelhecidas aceleradamente.

Portanto, para o híbrido AG122, verifica-se que as alterações detectadas nos perfis eletroforéticos da isoenzima fosfatase ácida ao longo do período de armazenamento, distinguiram a qualidade dos lotes da mesma forma que a apresentada pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Já as alterações observadas nos perfis eletroforéticos da isoenzima peroxidase a partir do 10º mês de armazenamento e as detectadas nos perfis de proteínas totais a partir do 6º mês de armazenamento, revelou o efeito deteriorativo provocado pelo tempo de armazenamento sob condições não controladas, independentemente da qualidade dos lotes.

Tabela 35. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima malato desidrogenase (MDH), de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

MDH	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamentos	Valores de Rf											
	0,46	0,48	0,53	0,56	0,58							
2 mese												
lote 1	= ¹	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
4 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
6 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
8 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
10 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
12 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 36. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima fosfatase ácida (FA), de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

FA	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamientos	Valores de Rf											
	0,05	0,55										
2 mese												
lote 1	* ¹	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
4 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	*	*										
lote 4	=	=										
6 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
8 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
10 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
12 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										

¹ (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 37. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima peroxidase (PRX), de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

PRX	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Valores de Rf												
Tratamentos	0,01	0,06			0,27	0,31	0,35	0,38		0,46		
2 mese												
lote 1	= ¹	=	X	X	=	=	=	=	X	=	X	
lote 2	=	=	X	X	=	=	=	=	X	=	X	
lote 3	=	=	X	X	=	=	=	=	X	=	X	
lote 4	=	=	X	X	=	=	=	=	X	=	X	
4 meses												
lote 1	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
lote 2	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
lote 3	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
lote 4	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
6 meses												
lote 1	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
lote 2	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
lote 3	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
lote 4	=	=	X	X	X	=	=	=	X	X	X	
8 meses												
lote 1	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 2	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 3	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 4	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
10 meses												
lote 1	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 2	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 3	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 4	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
12 meses												
lote 1	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 2	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 3	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	
lote 4	*	*	X	X	X	=	=	X	X	X	X	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 38a. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

		Número de bandas																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Prot. Total																								
Tratamentos		Valores de Rf																						
		0,02	0,04	0,06	0,90	0,11	0,13	0,14	0,16	0,20	0,24	0,26	0,30	0,32	0,34	0,38	0,49	0,42	0,46	0,48	0,55	0,59	0,67	0,72
2 mese																								
lote 1		= ¹	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	=	=	=	=	X	=
lote 2		=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	=	=	=	=	X	=
lote 3		=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	=	=	=	=	X	=
lote 4		=	X	=	=	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	X	=	=	=	=	X	=
4 mese																								
lote 1		=	=	X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 2		=	X	X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3		=	=	X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4		=	X	X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
6 meses																								
lote 1		X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X
lote 2		X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X
lote 3		X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X
lote 4		X	=	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 38b. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG122, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

		Número de bandas																						
Prot. Total		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Tratamentos		Valores de Rf																						
8 meses		0,02	0,04	0,06	0,90	0,11	0,13	0,14	0,16	0,20	0,24	0,26	0,30	0,32	0,34	0,38	0,49	0,42	0,46	0,48	0,55	0,59	0,67	0,72
lote 1	x ¹	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 2	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 3	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 4	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
10 meses																								
lote 1	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 2	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 3	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 4	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
12 meses																								
lote 1	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 2	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 3	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X
lote 4	X	=	=	=	X	X	=	X	=	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	X	X	X

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

4.2.3 Híbrido AG 5011

Assim como nos híbrido simples (AG9014) e duplo (AG122), as condições sob as quais as sementes deste híbrido foram armazenadas, revelaram variações de temperatura e umidade relativa do ar normais para o local e região (anexo:A1). Essas condições determinaram os teores de água das sementes durante o período de armazenamento, que permaneceram na faixa de 9,7 a 12,4 (Tabela 39), considerada adequada para o armazenamento de sementes de milho em ambiente não controlado. Além disso, é considerada baixa para o desenvolvimento da maioria dos agentes fitopatogênicos que atuam na deterioração das sementes, o que provavelmente justifique, juntamente com a eficiência do tratamento fungicida, a baixa incidência de fungos encontrados nas sementes (Tabela 40) .

Analisando-se os testes utilizados para detectar diferenças na qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento (Tabela 39), pode-se observar, que as diferenças estatísticas apresentadas entre os lotes, após 4, 8 e 12 meses de armazenamento, mantiveram na maioria dos testes o lote 3, como lote de qualidade inferior aos demais. Resultado este comprovado na análise baseada no desempenho dos lotes no conjunto de testes, por meio de pontuações atribuídas aos lotes em função das classificações estatísticas em cada teste (Tabela 41).

Pela análise da Tabela 39, observa-se também que a queda do poder germinativo das sementes ao longo do período de armazenamento foi revelada, após 4 meses de armazenamento, apenas para os lotes 1 e 3. A partir dos 8 meses de armazenamento a queda do poder germinativo foi observada de forma progressiva para todos os lotes.

Tabela 39. Grau de umidade, germinação, envelhecimento acelerado, frio com terra, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica (CE) das sementes do híbrido AG 5011, após 0 (E1), 4 (E2), 8 (E3) e 12 (E4) meses de armazenamento sob condições de ambiente não controlado.

Grau de umidade (%)					Germinação (%)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	10,8	11,9	10,8	9,8	L1	95Aa ¹	88Ba	72Ca	39Da
L2	11,0	12,4	11,7	10,0	L2	94Aa	92Aa	71Ba	41Ca
L3	10,4	11,5	10,1	9,8	L3	86Aa	70Bb	39Cb	16Db
L4	10,5	11,8	10,7	10,0	L4	88Aa	89Aa	68Ba	32Ca
CV (%)					CV (%)				
Envelhecimento acelerado (%)					Frio com terra (%)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	95Aa	83Bab	45Cb	37Da	L1	95Aa	33Bb	03Cbc	00Cc
L2	89Aa	86Aab	61Ba	36Ca	L2	96Aa	54Ba	19Ca	10Da
L3	91Aa	72Bb	21Cc	06Db	L3	82Ab	09Bc	00Cc	00Cc
L4	91Aa	90Aa	45Bb	41Ba	L4	92Aa	29Bb	09Cab	03Cbc
CV (%)					CV (%)				
Emergência de plântulas em campo (%)					CE (µmho/cm/g sementes)				
Armazenamento					Armazenamento				
lotes	E1	E2	E3	E4	lotes	E1	E2	E3	E4
L1	98Aa	89Bab	64Ca	10Dbc	L1	20Aa	23Ba	32Ca	37Db
L2	94Aa	89Aab	73Ca	19Da	L2	23Aa	30Bb	41Cb	44Da
L3	94Aa	76Bb	42Cb	06Dc	L3	20Aa	27Bab	34Ca	37Db
L4	96Aa	91Aa	62Ca	15Dab	L4	22Aa	28Bab	35Ca	39Dab
CV (%)					CV (%)				

¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 40. Análise sanitária das sementes após desinfecção: dados (%) da incidência de fungos detectadas nos tratamentos (períodos de armazenamento) em sementes de milho, híbrido AG5011

Patógenos	Meses de armazenamento		
	4	8	12
Lote 1			
<i>A. Alternata</i>	2	0	0
<i>Aspergillus spp.</i>	0	2	3
Lote 2			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	3
Lote3			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	2
Lote 4			
<i>Aspergillus spp.</i>	0	0	2

Tabela 41. Ordenação geral dos lotes de sementes de milho, híbrido AG5011, a partir de pontuações oriundas das classificações estatísticas no conjunto de testes de vigor (envelhecimento acelerado, teste de frio, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica)

LOTES	Períodos de armazenamento			
	0 meses	4 meses	8 meses	12 meses
L1	+ 1	+ 1	+ 1	- 3
L2	+ 1	+ 1	+ 4	+ 6
L3	- 1	- 4	- 4	- 6
L4	+ 1	+ 2	+ 3	+ 1

Por outro lado, nos testes de vigor, verifica-se que após 4 meses de armazenamento, com exceção dos testes de envelhecimento acelerado e emergência de plântulas em campo, em que os lotes 2 e 4 mantiveram a sua qualidade, todos os lotes apresentaram queda na sua qualidade. Já a partir do oitavo mês de armazenamento, a queda progressiva da qualidade foi verificada para todos os lotes.

Em relação à análise eletroforética, pode ser observado pelas Tabelas 42, 43 e 44, que dentre as enzimas avaliadas, a peroxidase e fosfatase

ácida apresentaram alterações do número e/ou intensidade das bandas com o aumento do tempo de armazenamento. Por outro lado, a malato desidrogenase não apresentou alterações nos seus perfís eletroforéticos com o aumento deste período. Comportamento semelhante, foi observado, ao se analisar o efeito dos períodos de envelhecimento acelerado nos híbrido simples (AG9014) e duplo (AG122) nas mesmas condições de armazenamento.

A fosfatase ácida, uma das enzimas que apresentaram alterações no número e ou intensidade das bandas com o aumento do período de armazenamento, como pode ser observado pela Tabela 43, apresentou redução de intensidade de bandas a partir do 4º mês de armazenamento para os lotes 1 e 3, considerados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica respectivamente como lotes de intermediária e inferior qualidade em relação aos outros lotes analisados.

Portanto, a atividade dessa enzima relacionou-se, com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes quanto a classificação dos lotes. Fato este, que não foi observado ao se analisar as sementes envelhecidas aceleradamente, porem, semelhante ao observado para o híbrido duplo (AG122) e para o simples (AG9014) até o 8º mês de armazenamento.

Pela análise da Tabela 44, pode ser observado também uma mudança nos perfís isoenzimáticos da peroxidase com o aumento do tempo de armazenamento das sementes. Nos períodos de armazenamento, os padrões das 3 primeiras bandas da isoenzima peroxidase, se revelaram semelhantes para os diferentes lotes. A diminuição da intensidade das 1ª e 3ª bandas verificado no 2º mês de armazenamento, voltou a ser constatado a partir do 8º mês de armazenamento. O desaparecimento das 10ª e 11ª bandas, as quais apresentaram, no 2º mês de armazenamento, diminuição na intensidade das bandas referentes aos lotes 1 e 3, considerados respectivamente lotes de intermediária e inferior qualidade, foi constatado a partir do 4º mês de

armazenamento.

A atividade dessa enzima, como no envelhecimento acelerado, correlacionou-se com os resultados detectados pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Resultado que foi verificado apenas para o híbrido duplo, nas mesmas condições de armazenamento.

Em relação aos perfis eletroforéticos de proteínas totais, referentes aos extratos de sementes secas de milho submetidas aos diferentes períodos de armazenamento, pode ser observado pelas Tabelas 45a e 45b, que entre as diferenças apresentadas pelos perfis eletroforéticos dos distintos períodos de armazenamento, a partir do 8º mês de armazenamento foi revelada certa constância do desaparecimento, para todos os lotes, de seis bandas (1ª, 3ª, 6ª, 12ª, 16ª e 20ª). Resultado semelhante, quanto ao decréscimo de bandas nos perfis eletroforéticos das proteínas, foi observado ao se analisar as sementes envelhecidas aceleradamente a partir do período de 72h.

Portanto, para este híbrido (AG5011), verifica-se que as alterações detectadas nos perfis eletroforéticos da isoenzima fosfatase ácida a partir do 4º mês de armazenamento e nos perfis eletroforéticos da peroxidase no 2º mês de armazenamento, distinguiram a qualidade dos lotes, da mesma forma que a apresentada pelos testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. Já as alterações observadas a partir do 4º mês de armazenamento nos perfis eletroforéticos da isoenzima peroxidase e as detectadas nos perfis de proteínas totais a partir do 8º mês de armazenamento, revelou o efeito deteriorativo provocado pelo tempo de armazenamento sob condições não controladas, independentemente da qualidade dos lotes.

Tabela 42. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima malato desidrogenase (MDH), de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

MDH	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tratamentos	Valores de Rf											
	0,45	0,50	0,53	0,56	0,63							
2 mese												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
4 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
6 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
8 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
10 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							
12 meses												
lote 1	=	=	=	=	=							
lote 2	=	=	=	=	=							
lote 3	=	=	=	=	=							
lote 4	=	=	=	=	=							

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 43. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima fosfatase ácida (FA), de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

FA	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
	0.48	0.53										
Tratamentos												
2 mese												
lote 1	= ¹	=										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	=	=										
4 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	*	*										
lote 4	=	=										
6 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
8 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
10 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										
12 meses												
lote 1	*	*										
lote 2	=	=										
lote 3	=	=										
lote 4	*	*										

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 44. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas da isoenzima peroxidase (PRX), de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

PRX	Número de bandas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Valores de Rf											
	0,01	0,05	0,09			0,26	0,31	0,37		0,46	0,50	
Tratamentos												
2 meses												
lote 1	* ¹	=	*	X	X	=	=	=	X	*	*	
lote 2	*	=	*	X	X	=	=	=	X	=	=	
lote 3	*	=	*	X	X	=	=	=	X	*	*	
lote 4	*	=	*	X	X	=	=	=	X	=	=	
4 meses												
lote 1	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
lote 2	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
lote 3	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
lote 4	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
6 meses												
lote 1	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
lote 2	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
lote 3	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
lote 4	=	=	=	X	X	X	=	=	X	X	X	
8 meses												
lote 1	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 2	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 3	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 4	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
10 meses												
lote 1	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 2	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 3	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 4	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
12 meses												
lote 1	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 2	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 3	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	
lote 4	*	*	*	X	X	X	=	X	X	X	X	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade. X ausência de banda)

Tabela 45a. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

Número de bandas																							
Prot. Total	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Valores de Rf																							
Tratamentos	0,04	0,08	0,09	0,12	0,13	0,16	0,20	0,24	0,26	0,30	0,33	0,39	0,42	0,46	0,48	0,55	0,58	0,59	0,62	0,64	0,72		
2 meses																							
lote 1	= ¹	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X		
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X		
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X		
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X		
4 meses																							
lote 1	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 2	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 3	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
lote 4	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
6 meses																							
lote 1	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X		
lote 2	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X		
lote 3	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X		
lote 4	X	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X		

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

Tabela 45b. Ocorrência (intensidade e valores de Rf) das bandas de proteínas totais, de sementes secas de milho, híbrido AG5011, referentes a permanência das mesmas nos diferentes períodos de armazenamento.

		Número de bandas																						
Prot. Total		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Valores de Rf		0,04	0,08	0,09	0,12	0,13	0,16	0,20	0,24	0,26	0,30	0,33	0,39	0,42	0,46	0,48	0,55	0,58	0,59	0,62	0,64	0,72		
8 meses																								
lote 1	X ¹	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 2	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 3	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 4	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
10 meses																								
lote 1	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 2	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 3	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 4	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
12 meses																								
lote 1	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 2	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 3	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	
lote 4	X	=	X	=	=	X	=	=	=	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	=	X	=	=	

1 (= presença de banda, * banda de menor intensidade, + banda de maior intensidade, X ausência de banda)

4.3 Comparação entre as alterações fisiológicas e bioquímicas detectadas nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado e as detectadas nos diferentes períodos de armazenamento

4.3.1 Híbrido AG9014

Analisando-se os histogramas (Figuras 1 a 3) e análise conjunta (anexos A2, A3 e A4), onde se compara as alterações fisiológicas detectadas ao longo do armazenamento com as observadas nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, verifica-se que, após 4 meses de armazenamento das sementes, os lotes 1 e 4 foram os únicos que apresentaram nos testes determinantes da qualidade das sementes, diferenças estatísticas entre os períodos de armazenamento e os de envelhecimento acelerado, com exceção do teste de frio, em que a queda de qualidade das sementes observada em todos os lotes, após o armazenamento, foi maior do que a verificada em qualquer um dos períodos de envelhecimento acelerado analisado.

O lote 4, após 4 meses de armazenamento, revelou queda na porcentagem de germinação, estatisticamente igual à apresentada nos períodos 48h, 72h e 96h de envelhecimento acelerado, porém, inferior à apresentada no período 120h. Para o lote 1, tal diferença foi detectada a partir do período 96h, o qual apresentou porcentagem de germinação inferior a revelada após 4 meses de armazenamento.

No parâmetro envelhecimento acelerado, o lote 1 revelou após 4 meses de armazenamento, queda de qualidade estatisticamente superior à observada nos períodos 0h, 24h e 48h. A partir do período 72h, a queda da qualidade proporcionada pelo envelhecimento acelerado foi superior à obtida após 4 meses de armazenamento. Por outro lado, o lote 4, após 4 meses de armazenamento, apresentou queda de qualidade igual à obtida nos períodos 24h, 48h, 72h e 96h, porém, inferior à obtida no período 120h.

O teste de emergência de plântulas em campo, só revelou diferença estatística no período 120h para o lote 4, no qual a queda da qualidade das sementes foi maior do que a encontrada após 4 meses de armazenamento.

Pelo teste de condutividade elétrica, pode-se observar que não houve diferença estatística entre o armazenamento após 4 meses e os diferentes períodos de envelhecimento acelerado.

Aos 8 meses de armazenamento, os lotes 2 e 4, apresentaram porcentagem de germinação inferior às obtidas nos períodos de envelhecimento acelerado. Por outro lado, o lote 1 apresentou queda de germinação superior às obtidas nos períodos 0h, 24h, 48h e 72h e, a partir do período 96h de envelhecimento acelerado, apresentou a mesma porcentagem de germinação que a obtida após 8 meses de armazenamento.

O lote 3, em todos os períodos de envelhecimento, apresentou germinação semelhante à obtida após 8 meses de armazenamento.

No parâmetro envelhecimento acelerado, o lote 1 apresentou, após 8 meses de armazenamento, queda de qualidade superior às obtidas nos períodos 0h, 24h e 48h de envelhecimento acelerado. A partir do período 72h a mesma queda na qualidade revelada após 8 meses de armazenamento foi observada. Já os lotes 2, 3 e 4 apresentaram após este período de armazenamento, queda de qualidade inferior a constatada em todos os períodos de envelhecimento acelerado analisados.

O comportamento dos lotes verificados no teste de frio, após 8 meses de armazenamento, foi o mesmo que o verificado após 4 meses de armazenamento, isto é, a queda na qualidade dos lotes, após o armazenamento, foi maior do que a verificada em qualquer um dos períodos de envelhecimento acelerado analisados.

Figura 1. Teste de germinação e de envelhecimento acelerado: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG9014.

Figura 2. Teste de frio com terra e de emergência de plântulas em campo: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG9014.

Conductividade elétrica

Figura 3. Teste de condutividade elétrica: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG9014.

O lote 2, foi o único lote que, em todos os períodos envelhecimento acelerado, apresentou emergência de plântulas em campo semelhante à encontrada após os 8 meses de armazenamento das sementes. Esta igualdade na emergência de plântulas em campo entre o armazenamento e o envelhecimento acelerado só foi constatada para o lote 4, no período de 120h. Os lotes 1 e 3 revelaram valores de qualidade inferiores aos obtidos nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado analisados

No teste de condutividade elétrica, todos os lotes, após 8 meses de armazenamento, revelaram valores de qualidade inferiores aos obtidos nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado analisados

Os lotes 2, 3 e 4 após 12 meses de armazenamento, apresentaram germinação inferior aos obtidos nos períodos 0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h de permanência das sementes na câmara de envelhecimento acelerado. O lote 1, apresentou comportamento similar ao verificado em todos os lotes, até o período 72h. Já a partir do período de 96h, a queda de germinação foi semelhante à observada após 12 meses de armazenamento. Comportamento semelhante foi verificado na avaliação do teste de envelhecimento acelerado.

Nos parâmetros teste de frio, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica, todos os lotes, após 12 meses de armazenamento revelaram valores de qualidade inferiores aos obtidos em todos os períodos de permanência das sementes na câmara.

Observa-se então que, aos 4 meses de armazenamento apenas os lotes 1 e 4, de maneira geral, apresentaram queda na qualidade fisiológica das sementes superior à observada nos menores períodos do teste de envelhecimento acelerado, porém inferior à observada a partir do período de 72h para o lote 1 e de 120h para o lote 4.

Após os 8 meses de armazenamento, a queda de qualidade fisiológica das sementes, de maneira geral, foi efetiva para todos os lotes e apenas os lotes 1 e 4, em alguns parâmetros de qualidade, apresentaram

igualdade de valores entre o armazenamento e os períodos de envelhecimento acelerado.

Portanto, para este híbrido (AG9014), verifica-se que os únicos lotes a apresentarem certa relação entre o envelhecimento acelerado e o armazenamento, foram os lotes 1 e 4, lotes considerados respectivamente de intermediária e inferior qualidade em relação aos demais; isto, provavelmente possa ser justificado pelo fato dos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica não terem sido sensíveis para detectar o efeito deteriorativo provocado pelo envelhecimento acelerado nos lotes de qualidade superior.

Em relação as alterações bioquímicas, observa-se que, dentre os perfis eletroforéticos das isoenzimas e proteínas totais estudados, houve certa coerência nas alterações detectadas com o decorrer da deterioração das sementes, provocadas tanto pelo envelhecimento acelerado quanto pelo armazenamento sob condições não controladas.

Entretanto, ao se comparar a quantidade de proteínas totais extraídas das sementes dos diferentes períodos de envelhecimento acelerado com as extraídas nos diferentes períodos de armazenamento (Figura 04), verifica-se que a variação da quantidade de proteína no decorrer dos dois tipos de envelhecimento apresentaram comportamento distinto. Pode-se inferir, portanto, que mesmo que o envelhecimento acelerado e o ocasionado pelo armazenamento conduzam a perda da germinabilidade, devido às mudanças metabólicas (Priestley et al., 1983; Ganguli et al., 1990), estas mudanças provavelmente devam ser ocasionadas por processos distintos.

No envelhecimento acelerado, uma das prováveis causas para o aumento da quantidade de proteínas, verificado para este híbrido, a partir do período 72h, possa estar relacionada com o aumento do teor de água atingido pelas sementes, em torno de 20%, o que provavelmente levaria a iniciar-se o processo de germinação, ativação e síntese de novas proteínas, uma vez que segundo Bewley & Black (1994), a germinação se inicia com a absorção de

água. Entretanto, o processo não se concluiria devido ao estresse imposto pela alta temperatura associada a alta umidade, uma vez que Dell'Aquila & Spada (1992 e 1994) em experimentos conduzidos com sementes de trigo, observaram que o efetivo controle da emergência da radícula está relacionado com um padrão protéico e que a síntese de um políptídeo associado com o avanço do processo germinativo é bloqueado com o aumento do estresse. Estes resultados confirmam o observado por Chauham et al. (1985), no qual segundo os autores, os perfis eletroforéticos de proteínas e enzimas de sementes secas de soja e de cevada, envelhecidas aceleradamente assemelham-se àqueles de sementes não envelhecidas porém germinadas, pelo período de 24 a 48 horas.

Figura 04. Quantidade de proteína dos diferentes lotes de sementes de milho, híbrido AG122, após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado e de armazenamento

No armazenamento, a queda da qualidade das sementes constatada a partir do 8º mês de armazenamento, pode estar correlacionada com a perda de quantidade de proteína verificada após o 6º mês de armazenamento, já que muitos trabalhos tem demonstrado que o início da deterioração de sementes

está associada com a redução de proteínas de síntese (Abdul-Baki, 1969; Ching, 1972; Perl et al., 1978; Blowers et al., 1980). Para, Coolbear (1984), o provável efeito do envelhecimento de sementes em prejudicar a síntese de enzima e subsequente germinação pode ser a perda da habilidade das sementes produzirem enzimas essenciais para a desintoxicação e reparo.

Por outro lado, verifica-se que apesar de se ter inferido que a quantidade de proteínas no envelhecimento acelerado e no armazenamento variam de forma distintas com o decorrer dos períodos, não se pode deixar de se observar uma certa similaridade que existe entre os dois tipos de envelhecimento, quanto ao pico de aumento na quantidade de proteína verificado nos períodos (72h no envelhecimento acelerado e aos 6 meses de armazenamento) que antecedem a queda da qualidade das sementes, fato este que pode ser atribuído ao aparecimento de enzimas específicas de degradação e ou síntese; ou pelo fato das proteínas poderem sofrer mudanças na configuração resultante de quebra parcial ou desdobramento de estrutura, condensação para formar polímeros e degradação para sub-unidades Roberts (1972), resultando em um maior número de grupos reagindo com o reagente de Bradford. Resultado, que foi encontrado por Chauhan et al. (1985) em que observaram redução no número de bandas de proteínas de alto peso molecular com o avanço do processo deteriorativo

4.3.2 Híbrido AG 122

Analisando-se os histogramas (Figuras 5, 6 e 7) e a análise conjunta (anexos A5, A6 e A7), onde se compara as alterações fisiológicas detectadas ao longo do armazenamento com as observadas nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, verifica-se que, todos os lotes do híbrido duplo em questão, após 4 meses de armazenamento, apresentaram queda na porcentagem de germinação superior a obtida no período 0h de envelhecimento acelerado. Por outro lado, foi semelhante à revelada a partir do período 24h para os lotes 1, 3 e 4 e a partir do período 48h para o lote 2, porém inferior à obtida no período 96h para o lote 1 e 120h para o lote 3.

No parâmetro envelhecimento acelerado, a queda de qualidade apresentada pelos lotes 1 e 4, após 4 meses de armazenamento, foi superior à revelada a partir do período 0h de envelhecimento acelerado e estatisticamente igual a obtida no período 120h, para o lote 1. A queda de qualidade revelada pelo lote 3, após 4 meses de armazenameto, foi superior apenas à obtida no período 24h. Já para o lote 2, a queda de qualidade observada a partir do período 48h foi superior à revelada após os 4 meses de armazenamento.

Todos os lotes nos testes de frio e de condutividade elétrica, após 4 meses de armazenamento, apresentaram queda na qualidade das sementes maior do que a verificada em qualquer um dos períodos de envelhecimento acelerado analisados.

No parâmetro emergência de plântulas em campo todos os lotes apresentaram, após 4 meses de armazenamento, qualidade semelhante à encontrada nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado.

Figura 5. Teste de germinação e de envelhecimento acelerado: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG122.

Frio com terra

Emergência de plântulas em campo

Figura 6. Teste de frio com terra e de emergência de plântulas em campo: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG122.

Figura 7. Teste de condutividade elétrica: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG122.

Aos 8 meses de armazenamento, os lotes 1, 2, e 4, apresentaram germinação inferior às obtidas nos períodos de envelhecimento acelerado. O lote 3 apresentou comportamento semelhante aos demais lotes até o período 96h; entretanto, no período de 120h de envelhecimento a queda na germinação foi semelhante à obtida após os 8 meses de armazenamento.

Os testes de envelhecimento acelerado, frio, emergência de plântulas em campo e condutividade elétrica revelaram, após 8 meses de armazenamento, qualidade inferior de todos os lotes de sementes em relação aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado analisados.

Aos 12 meses de armazenamento das sementes, verificou-se pela análise dos parâmetros fisiológicos avaliados, que todos os lotes, apresentaram qualidade estatisticamente inferior aos períodos de envelhecimento acelerado empregados.

Observa-se então, para este híbrido (AG122), que a falta de coerência encontrada nos parâmetros fisiológicos analisados não permitiu o estabelecimento de uma relação entre o envelhecimento acelerado e o armazenamento das sementes; isto, provavelmente possa ser justificado pelo fato de que poucos foram os testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica que demonstraram sensibilidade para detectar o efeito deteriorativo provocado pelo envelhecimento acelerado nos diferentes lotes das sementes.

Em relação às alterações bioquímicas, observa-se que, dentre os perfís eletroforéticos das isoenzimas e proteínas totais estudados, apenas as enzimas malato desidrogenase e a peroxidase apresentaram certa coerência nas alterações provenientes dos dois tipos de envelhecimento.

Assim, ao se comparar a quantidade de proteínas totais extraídas das sementes dos diferentes períodos de envelhecimento acelerado com as extraídas nos diferentes períodos de armazenamento (Figura 8), verifica-se também que a variação da quantidade de proteína no decorrer dos dois tipos de envelhecimento apresentaram um comportamento distinto, mesmo resultado

foi observado na análise do híbrido simples (AG9014). Assim, pode-se inferir, que as mudanças metabólicas ocasionadas pelos dois tipos de envelhecimento, devam ser originadas de processos distintos.

No envelhecimento acelerado, observa-se relativa constância na quantidade de proteína nos diferentes períodos de envelhecimento analisados, o que condiz com os resultados dos perfis eletroforéticos relativos à proteínas totais, em que não foi constatado diferença no número de bandas entre os períodos de envelhecimento. Este comportamento não foi verificado na análise do híbrido simples (AG9014).

No armazenamento, a queda da qualidade das sementes constatada a partir do 8º mês, pode estar correlacionada, assim como no híbrido AG9014, com a perda de quantidade de proteína verificada após o 6º mês de armazenamento.

Figura 08. Quantidade de proteína dos diferentes lotes de sementes de milho, híbrido AG122, após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado e de armazenamento

4.3.3 Híbrido AG 5011

Analisando-se os histogramas (Figuras 9, 10 e 11) e a análise conjunta (anexos A8, A9 e A10), onde se compara as alterações fisiológicas detectadas ao longo do armazenamento com as observadas nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado, verifica-se que, após 4 meses de armazenamento das sementes do referido híbrido, o lote 3 apresentou queda de germinação superior a observada em todos os períodos de envelhecimento acelerado. Por outro lado, a queda na germinação apresentada pelo lote 1 foi apenas, superior às detectadas nos períodos 0h e 24h.

O período de 120h de envelhecimento acelerado para o lote 2, determinou queda na porcentagem de germinação superior a determinada após 4 meses de armazenamento.

O lote 4 não apresentou diferenças entre as sementes armazenadas após 4 meses e as sementes obtidas nos períodos de envelhecimento acelerado.

No parâmetro envelhecimento acelerado, os lotes 1 e 3 revelaram, após 4 meses de armazenamento, qualidade inferior quando comparados aos períodos 0h, 48h e 72h de permanência das sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado, qualidade esta que se mostrou semelhante a partir do período 96h. Por outro lado, os lotes 2 e 4, após 4 meses de armazenamento, apresentaram qualidade semelhante à observada nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado.

Todos os lotes no teste de frio e condutividade elétrica, após 4 meses de armazenamento, apresentaram queda na qualidade das sementes maior do que a verificada nos períodos de envelhecimento acelerado analisados.

Figura 9. Teste de germinação e de envelhecimento acelerado: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG5011.

Figura 10. Teste de frio com terra e de emergência de plântulas em campo: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG5011.

Conductividade elétrica

Figura 11. Teste de condutividade elétrica: comparação entre os resultados obtidos após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado (EA) e de armazenamento das sementes de milho, híbrido AG5011.

A queda de qualidade revelada pelo teste de emergência de plântulas em campo, para o lote 1, após 4 meses de armazenamento, só foi maior do que a verificada no período 0h de envelhecimento. Já para o lote 3, ela persistiu até o último período de envelhecimento (120h). Para os demais lotes não foi constatada diferenças estatísticas entre o armazenamento e os períodos de permanência das sementes nas condições do teste de envelhecimento acelerado.

Após 8 meses de armazenamento das sementes, verificou-se pela análise dos parâmetros fisiológicos avaliados, que todos os lotes apresentaram qualidade estatisticamente inferior à todos os períodos de envelhecimento acelerado empregados.

Observa-se então, para este híbrido, que a falta de coerência encontrada nos parâmetros fisiológicos analisados, assim como no híbrido duplo, não permitiu o estabelecimento de uma relação entre o envelhecimento acelerado e o armazenamento das sementes; isto, provavelmente possa ser justificado pelo fato de que apenas os testes de envelhecimento acelerado e o de condutividade, entre todos os testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica, terem sido os únicos a demonstrarem sensibilidade aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado.

Em relação às alterações bioquímicas, observa-se que, dentre os perfís eletroforéticos das isoenzimas e proteínas totais estudados, houve certa coerência nas alterações detectadas com o decorrer da deterioração das sementes, provocadas tanto pelo envelhecimento acelerado quanto pelo armazenamento sob condições não controladas.

Entretanto, ao se comparar a quantidade de proteínas totais extraídas das sementes dos diferentes períodos de envelhecimento acelerado com as extraídas nos diferentes períodos de armazenamento (Figura 12), verifica-se que a variação da quantidade de proteína no decorrer dos dois tipos de envelhecimento apresentam um comportamento distinto. Assim pode-se

inferir que as mudanças metabólicas ocasionadas pelos dois tipos de envelhecimento, devam ser originadas de processos distintos, tal como observado na análise dos híbridos simples e duplo.

No envelhecimento acelerado, uma das prováveis causas para o aumento da quantidade de proteínas, verificado para este híbrido, a partir do período 72h, assim como no híbrido simples, poderia estar relacionada com o aumento do teor de água atingido pelas sementes, em torno de 20%, o que provavelmente levaria a iniciar-se o processo de germinação, com a ativação e síntese de novas proteínas.

No armazenamento, a queda da qualidade das sementes constatada a partir do 8º mês de armazenamento, pode estar correlacionada, assim como nos híbridos simples e duplo, com a perda de quantidade de proteína verificada após o 6º mês de armazenamento.

Figura 12. Quantidade de proteína dos diferentes lotes de sementes de milho, híbrido AG5011, após os diferentes períodos de envelhecimento acelerado e de armazenamento

Por outro lado, verifica-se que apesar de se ter inferido que a quantidade de proteínas no envelhecimento acelerado e no armazenamento variam de forma distintas com o decorrer dos períodos, não se pode deixar de se observar, assim como no híbrido simples (AG9014), uma certa similaridade entre os dois tipos de envelhecimento, quanto ao pico de aumento na quantidade de proteína verificado nos períodos (24h no envelhecimento acelerado e 2 meses de armazenamento e 72h no envelhecimento acelerado e 6 meses de armazenamento) que antecedem a queda da qualidade das sementes.

4.4. Considerações Gerais

Os resultados obtidos na presente pesquisa revelaram que as variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas estão associadas ao processo deteriorativo das sementes de milho, provocado tanto pelo envelhecimento acelerado quanto pelo armazenamento das sementes.

Quanto aos diferentes sistemas enzimáticos estudados, os das enzimas fosfatase ácida e peroxidase, revelaram ser promissores marcadores bioquímicos para avaliação da qualidade de sementes de milho em estádios iniciais de deterioração, já que conseguiram detectar alterações nos perfís eletroforéticos de sementes que, submetidas aos diferentes testes de qualidade fisiológica após os períodos de envelhecimento acelerado, mostraram variações mínimas de vigor.

Em relação as análises das proteínas estas permitiram verificar que, pode ocorrer uma diminuição no número de bandas nos perfís eletroforéticos com o aumento dos períodos tanto de envelhecimento acelerado como de armazenamento das sementes, exceção feita ao híbrido duplo (AG122) em que não foi constatado alterações no número de bandas e na quantidade de proteínas com o aumento dos períodos de envelhecimento acelerado.

Por outro lado, foi constatado haver dependência do genótipo, quanto as alterações fisiológicas detectadas tanto no envelhecimento acelerado como no armazenamento. Assim, o híbrido simples (AG9014) mostrou-se mais sensível aos efeitos deletéricos ocasionados pelo envelhecimento acelerado do que o híbrido duplo (AG122) e triplo (AG5011), respectivamente; tal fato não foi verificado no armazenamento em que o híbrido triplo revelou-se mais sensível do que o híbrido duplo e simples, respectivamente. Resultado similar foi observado por Santipracha et al.(1997), ao estudar o efeito do envelhecimento acelerado na qualidade de sementes de 3 híbridos de milho, onde foi verificado maior sensibilidade do híbrido simples.

5 CONCLUSÕES

Pela análise e interpretação dos resultados pode-se concluir que:

a) variações nos perfís eletroforéticos de proteínas totais e das isoenzimas fosfatase ácida e peroxidase estão associadas ao processo deteriorativo de sementes de milho.

b) as análises bioquímicas são mais efetivas do que os testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica, para indicar o efeito deteriorativo provocado pelo teste de envelhecimento acelerado nas sementes de milho.

c) as alterações verificadas nas sementes, envelhecidas artificialmente ou armazenadas em condições ambientais, apresentam respostas distintas conforme o genótipo.

d) o envelhecimento acelerado e o armazenamento das sementes apresentaram similaridade quanto as alterações bioquímicas detectadas nas sementes.

ANEXOS

Anexo A1. Dados climáticos de Umidade relativa do ar (UR) e de temperatura média (Tmed), máxima (Tmáx) e mínima (Tmin) registrados durante o período de armazenamento das sementes de milho no Laboratório de Análise de Sementes do LAG/ESALQ/USP, no município de Piracicaba-SP

Anexo A2. Análise conjunta dos parâmetros germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG9014 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 4 meses de armazenamento (E2).

Germinação (%)													
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2	
L1	97a	92a ¹	95a	92a	93a	92a	89a	92a	75b	92a	71b	92a	
L2	97a	93a	99a	93a	99a	93a	98a	93a	94a	93a	97a	93a	
L3	97a	97a	98a	97a	98a	97a	96a	97a	96a	97a	94a	97a	
L4	87a	56b	79a	56b	67a	56a	67a	56a	57a	56a	42b	56a	
Envelhecimento acelerado (%)													
lotes	0h		E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	91a	63b		82a	63b	71a	63b	53b	63a	49b	63a	47b	63a
L2	97a	97a		93a	97a	95a	97a	93a	97a	94a	97a	87a	97a
L3	95a	92a		94a	92a	94a	92a	94a	92a	86a	92a	87a	92a
L4	66a	33b		39a	33a	25a	33a	27a	33a	28a	33a	15b	33a
Teste de frio com terra (%)													
lotes	0h		E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	89a	32b		84a	32b	85a	32b	84a	32b	70a	32b	71a	32b
L2	99a	59b		94a	59b	98a	59b	95a	59b	94a	59b	94a	59b
L3	98a	59b		91a	59b	97a	59b	93a	59b	96a	59b	82a	59b
L4	70a	10b		65a	10b	65a	10b	60a	10b	52a	10b	42a	10b
Emergência de plântulas em campo (%)													
lotes	0h		E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	95a	89a		92a	89a	91a	89a	90a	89a	88a	89a	82a	89a
L2	99a	97a		96a	97a	96a	97a	96a	97a	96a	97a	97a	97a
L3	100a	97a		99a	97a	97a	97a	96a	97a	98a	97a	94a	97a
L4	78a	71a		76a	71a	80a	71a	69a	71a	63a	71a	41b	71a
Condutividade elétrica (µmho/cm/g sementes)													
lotes	0h		E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	18a	20a		21a	20a	20a	20a	18a	20a	19a	20a	20a	20a
L2	16a	18a		15a	18a	14a	18a	15a	18a	15a	18a	14a	18a
L3	15a	16a		15a	16a	14a	16a	14a	16b	16a	16a	14a	17a
L4	23a	27a		23a	27a	22a	27a	24a	27a	24a	27a	25a	27a

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Anexo A3. Análise conjunta dos parâmetros germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG9014 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 8 meses de armazenamento (E3).

Germinação (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	97a ¹ 72b	95a 72b	93a 72b	89a 72b	75a 72a	71a 72a
L2	97a 86b	99a 86b	99a 86b	98a 86b	94a 86b	97a 86b
L3	97a 92a	98a 92a	98a 92a	96a 92a	96a 92a	94a 92a
L4	87a 30b	79a 30b	67a 30b	67a 30b	57a 30b	42a 30b
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	91a 53b	82a 53b	71a 53b	53a 53a	49a 53a	47a 53a
L2	97a 53b	93a 53b	95a 53b	93a 53b	94a 53b	87a 53b
L3	95a 57b	94a 57b	94a 57b	94a 57b	86a 57b	87a 57b
L4	66a 01b	39a 01b	21a 01b	27a 01b	28a 01b	15a 01b
Frio com terra (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	89a 25b	84a 25b	85a 25b	84a 25b	70a 25b	72a 25b
L2	99a 30b	94a 30b	98a 30b	95a 30b	94a 30b	94a 30b
L3	98a 32b	91a 32b	97a 32b	93a 32b	96a 32b	82a 32b
L4	70a 02b	65a 02b	65a 02b	60a 02b	52a 02b	42a 02b
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	95a 70b	92a 70b	91a 70b	90a 70b	88a 70b	82a 70b
L2	99a 91a	96a 91a	96a 91a	96a 91a	96a 91a	97a 91a
L3	100a 84b	99a 84b	97a 84b	96a 84b	98a 84b	94a 84b
L4	78a 33b	76a 33b	80a 33b	69a 33b	63a 33b	41a 33a
Condutividade elétrica (µmho/cm/g sementes)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	18a 29b	21a 29b	20a 29b	17a 29b	19a 29b	20a 29b
L2	16a 23b	15a 23b	14a 23b	15a 23b	15a 23b	14a 23b
L3	15a 23b	15a 23b	14a 23b	14a 23b	16a 23b	14a 23b
L4	23a 36b	23a 37b	22a 37b	24a 36b	24a 36b	25a 36b

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Anexo A4. Análise conjunta dos parâmetro germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG9014 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 12 meses de armazenamento (E4).

Germinação (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	97a 66b	95a 66b	93a 66b	89a 66b	75a 66a	71a 66a
L2	97a 69b	99a 69b	99a 69b	98a 69b	94a 69b	97a 69b
L3	97a 77b	98a 77b	98a 77b	96a 77b	96a 77b	94a 77b
L4	87a 07b	79a 07b	67a 07b	67a 07b	57a 07b	42a 07b
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	91a 43b	82a 43b	71a 43b	53a 43a	49a 43a	47a 43a
L2	97a 69b	93a 69b	95a 69b	93a 69b	94a 69b	87a 69b
L3	95a 71b	94a 71b	94a 71b	94a 71b	86a 71b	87a 71b
L4	66a 01b	39a 01b	27a 01b	27a 01b	28a 01b	15a 01b
Teste de frio com terra (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	89a 11b	84a 11b	85a 11b	84a 11b	70a 11b	72a 11b
L2	99a 12b	94a 12b	98a 12b	95a 12b	94a 12b	94a 12b
L3	98a 14b	91a 14b	97a 14b	93a 14b	96a 14b	82a 14b
L4	70a 00b	65a 00b	65a 00b	60a 00b	52a 00b	42a 00b
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	95a 20b	92a 20b	91a 20b	90a 20b	88a 20b	82a 20b
L2	99a 30b	96a 30b	96a 30b	96a 30b	96a 30b	97a 30b
L3	100a 28b	99a 28b	97a 28b	96a 28b	98a 28b	94a 28b
L4	78a 3b	76a 03b	80a 03b	69a 03b	63a 03b	41a 03b
Condutividade elétrica (μmho/cm/g sementes)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	18a 31b	21a 31b	20a 31b	17a 31b	19a 31b	20a 31b
L2	26a 26b	17a 26b	14a 26b	15a 26b	15a 26b	14a 26b
L3	15a 24b	15a 24b	14a 24b	14a 24b	16a 24b	14a 24b
L4	23a 39b	23a 39b	22a 39b	24a 39b	24a 39b	25a 39b

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela A5. Análise conjunta dos parâmetros germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG 122 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 4 meses de armazenamento (E2).

Germinação (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	99a ¹	91b	96a	91a	92a	91a	93a	91a	84b	91a	75b	91a
L2	99a	87b	97a	87b	92a	87a	94a	87a	91a	87a	85a	87a
L3	99a	92b	96a	92a	97a	92a	96a	92a	90a	92a	85a	92a
L4	100a	90b	93a	90a	92a	90a	92a	90a	88a	90a	42b	90a
Envelhecimento acelerado (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	86a	55b	82a	55b	82a	55b	78a	55b	78a	55b	55b	55a
L2	91a	90a	93a	90a	75b	90a	80b	90a	77b	90a	81a	90a
L3	85a	81a	91a	81b	85a	81a	85a	81a	85a	81a	81a	81a
L4	85a	51b	88a	51b	84a	51b	86a	51b	81a	51b	72a	51b
Frio com terra (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	92a	25b	86a	25b	85a	25b	89a	25b	89a	25b	83a	25b
L2	95a	41b	92a	41b	92a	41b	92a	41b	93a	41b	89a	41b
L3	94a	28b	90a	28b	87a	28b	89a	28b	85a	28b	77a	28b
L4	80a	27b	78a	27b	72a	27b	74a	27b	77a	27b	77a	27b
Emergência de plântulas em campo (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	98a	89a	96a	89a	90a	89a	90a	89a	90a	89a	86a	89a
L2	98a	91a	94a	91a	92a	91a	96a	91a	92a	91a	92a	91a
L3	98a	89a	96a	89a	92a	89a	90a	89a	88a	89a	91a	89a
L4	90a	91a	94a	91a	88a	91a	92a	91a	92a	91a	88b	91a
Condutividade elétrica (µmho/cm/g sementes)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	19a	23b	21a	23b	19a	23b	18a	23b	18a	23b	20a	23b
L2	14a	18b	14a	18b	13a	18b	14a	18b	13a	18b	13a	18b
L3	16a	19b	16a	19b	14a	19b	14a	19b	17a	19b	16a	19b
L4	11a	17b	12a	17b	10a	17b	10a	17b	10a	17b	11a	17b

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela A6. Análise conjunta dos parâmetro germinação, envelhecimento acelerado, frio com terra e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG122 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 8 meses de armazenamento (E3).

Germinação (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	99a ¹ 61b	82a 61b	82a 61b	93a 61b	84a 61b	75a 61b
L2	99a 76b	97a 76b	92a 76b	94a 76b	91a 76b	85a 76b
L3	99a 82b	97a 82b	97a 82b	96a 82b	90a 82b	85a 82a
L4	100a 73b	92a 73b	92a 73b	92a 73b	88a 73b	86a 73b
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	86a 11b	82a 11b	82a 11b	78a 11b	78a 11b	55a 11b
L2	91a 37b	93a 37b	75a 37b	80a 37b	77a 37b	81a 37b
L3	85a 24b	91a 24b	85a 24b	85a 24b	85a 24b	81a 24b
L4	85a 16b	88a 16b	84a 16b	86a 16b	81a 16b	72a 16b
Frio com terra (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	92a 06b	86a 06b	85a 06b	89a 06b	89a 06b	83a 06b
L2	95a 19b	92a 19b	92a 19b	91a 19b	93a 19b	89a 19b
L3	94a 10b	90a 10b	87a 10b	89a 10b	85a 10b	77a 10b
L4	80a 05b	78a 05b	72a 05b	74a 05b	77a 05b	77a 05b
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	98a 60b	96a 60b	90a 60b	90a 60b	90a 60b	86a 60b
L2	98a 74b	94a 74b	92a 74b	96a 74b	92a 74b	92a 74b
L3	98a 67b	96a 67b	92a 67b	90a 67b	88a 67b	91a 67b
L4	90a 64b	94a 64b	88a 64b	92a 64b	92a 64b	88a 64b
Condutividade elétrica ($\mu\text{mho/cm/g}$ sementes)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	19a 33b	21a 33b	19a 33b	18a 33b	18a 33b	20a 33b
L2	14a 24b	14a 24b	13a 24b	14a 24b	13a 24b	13a 24b
L3	16a 27b	16a 27b	14a 27b	14a 27b	16a 27b	16a 27b
L4	11a 20b	12a 20b	10a 20b	10a 20b	10a 20b	11a 20b

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela A7. Análise conjunta dos parâmetro germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG122 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 12 meses de armazenamento (E4).

Germinação (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	99a ¹ 32b	96a 32b	92a 32b	93a 32b	84a 32b	75a 32b
L2	98a 49b	97a 49b	92a 49b	94a 49b	91a 49b	85a 49b
L3	99a 49b	96a 49b	97a 49b	96a 49b	90a 49b	85a 49b
L4	100a 45b	93a 45b	92a 45b	92a 45b	88a 45b	86a 45b
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	86a 08b	82a 08b	82a 08b	78a 08b	78a 08b	55a 08b
L2	91a 14b	93a 14b	75a 14b	80a 14b	77a 14b	81a 14b
L3	85a 12b	91a 22b	85a 22b	85a 22b	85a 22b	81a 22b
L4	85a 05b	88a 05b	84a 05b	86a 05b	81a 05b	72a 05b
Frio com terra (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	92a 03b	86a 03b	85a 03b	89a 03b	89a 03b	83a 03b
L2	95a 07b	92a 07b	92a 07b	91a 07b	93a 07b	89a 07b
L3	94a 05b	90a 05b	87a 05b	89a 05b	85a 05b	77a 05b
L4	80a 00b	78a 00b	72a 00b	74a 00b	77a 00b	77a 00b
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	98a 12b	96a 12b	90a 12b	90a 12b	90a 12b	86a 12b
L2	98a 20b	94a 20b	92a 20b	96a 20b	92a 20b	92a 20b
L3	98a 14b	96a 14b	92a 14b	90a 14b	88a 14b	91a 14b
L4	90a 11b	94a 11b	88a 11b	92a 11b	92a 11b	88a 11b
Condutividade elétrica (μmho/cm/g sementes)						
lotes	0h E4	24h E4	48h E4	72h E4	96h E4	120h E4
L1	19a 33b	21a 33b	19a 33b	18a 33b	18a 33b	20a 33b
L2	14a 26b	14a 26b	13a 26b	14a 26b	13a 26b	13a 26b
L3	16a 28b	16a 28b	14a 28b	14a 28b	16a 28b	16a 28b
L4	11a 22b	12a 22b	10a 22b	10a 22b	10a 22b	11a 22b

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela A8. Análise conjunta dos parâmetros germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG 5011 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 4 meses de armazenamento (E2).

Germinação (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	95a	88b	94a	88b	91a	88a	90a	88a	90a	88a	88a	88a
L2	94a	92a	91a	92a	89a	92a	93a	92a	92a	92a	84b	92a
L3	86a	70b	90a	70b	82a	70b	91a	70b	86a	70b	89a	70b
L4	88a	89a	92a	89a	92a	89a	92a	89a	83a	89a	85a	89a
Envelhecimento acelerado (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	95a	83b	92a	83a	96a	83b	96a	83b	90a	83a	90a	83a
L2	89a	86a	88a	86a	94a	86a	92a	86a	87a	86a	91a	86a
L3	91a	72b	81a	72a	86a	72b	90a	72b	80a	72a	78a	72a
L4	91a	90a	91a	90a	96a	90a	84a	90a	87a	90a	87a	90a
Frio com terra (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	95a	33b	95a	33b	86a	33b	88a	33b	90a	33b	93a	33b
L2	96a	54b	93a	54b	91a	54b	88a	54b	93a	54b	94a	54b
L3	82a	09b	77a	09b	72a	09b	83a	09b	85a	09b	78a	09b
L4	92a	29b	89a	29b	94a	29b	91a	29b	88a	29b	89a	29b
Emergência de plântulas em campo (%)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	98a	89b	92a	89a	96a	89a	94a	89a	94a	89a	92a	89a
L2	94a	89a	94a	89a	92a	89a	96a	89a	94a	89a	95a	89a
L3	92a	76b	88a	76b	86a	76b	88a	76b	86a	76b	86a	76b
L4	96a	91a	96a	91a	94a	91a	96a	91a	90a	91a	90a	91a
Condutividade elétrica (µmho/cm/g sementes)												
lotes	0h	E2	24h	E2	48h	E2	72h	E2	96h	E2	120h	E2
L1	20a	23b	19a	23b	19a	23b	16a	23b	18a	23b	17a	23b
L2	23a	30b	23a	30b	25a	30b	24a	30b	23a	30b	22a	30b
L3	20a	27b	21a	27b	18a	27b	16a	27b	16a	27b	17a	27b
L4	22a	28b	23a	28b	18a	28b	19a	28b	17a	28b	18a	28b

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela A9. Análise conjunta dos parâmetros germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG 5011 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 8 meses de armazenamento (E3).

Germinação (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	95a ¹ 72b	95a 72b	91a 72b	90a 72b	90a 72b	88a 72b
L2	94a 71b	91a 71b	89a 71b	93a 71b	92a 71b	84a 71b
L3	86a 39b	90a 39b	82a 39b	91a 39b	86a 39b	89a 39b
L4	88a 68b	92a 68b	92a 68b	92a 68b	83a 68b	85a 68b
Envelhecimento acelerado (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	95a 45b	92a 45b	96a 45b	96a 45b	90a 45b	90a 45b
L2	89a 61b	88a 61b	94a 61b	92a 61b	87a 61b	91a 61b
L3	91a 21b	81a 21b	86a 21b	90a 21b	80a 21b	78a 21b
L4	91a 45b	91a 45b	96a 45b	84a 45b	87a 45b	87a 45b
Frio com terra (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	95a 03b	95a 03b	86a 03b	88a 03b	90a 03b	93a 03b
L2	96a 19b	93a 19b	91a 19b	88a 19b	93a 19b	94a 19b
L3	82a 00b	77a 00b	72a 00b	83a 00b	85a 00b	78a 00b
L4	92a 09b	89a 09b	93a 09b	91a 09b	88a 09b	89a 09b
Emergência de plântulas em campo (%)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	98a 64b	92a 64b	96a 64b	94a 64b	94a 64b	92a 64b
L2	95a 73b	94a 73b	92a 73b	96a 73b	94a 73b	95a 73b
L3	93a 42b	88a 42b	86a 42b	88a 42b	86a 42b	86a 42b
L4	96a 62b	96a 62b	94a 62b	96a 62b	90a 62b	90a 62b
Condutividade elétrica (µmho/cm/g sementes)						
lotes	0h E3	24h E3	48h E3	72h E3	96h E3	120h E3
L1	20a 32b	19a 32b	18a 32b	16a 32b	18a 32b	17a 32b
L2	23a 41b	23a 41b	25a 41b	24a 41b	23a 41b	22a 41b
L3	20a 34b	21a 34b	18a 34b	16a 34b	16a 34b	17a 34b
L4	22a 35b	23a 35b	18a 35b	19a 35b	17a 35b	18a 35b

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela A10. Análise conjunta dos parâmetro germinação, envelhecimento acelerado, frio com solo e condutividade elétrica entre os diferentes períodos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) de permanência das sementes do híbrido AG 5011 nas condições do teste de envelhecimento acelerado e após 12 meses de armazenamento (E4).

Germinação (%)												
lotes	0h E4		24h E4		48h E4		72h E4		96h E4		120h E4	
L1	95a ¹	39b	94a	39b	91a	39b	90a	39b	90a	39b	88a	39b
L2	94a	41b	91a	41b	89a	41b	93a	41b	92a	41b	84a	41b
L3	86a	16b	90a	16b	82a	16b	91a	16b	86a	16b	89a	16b
L4	88a	32b	92a	32b	92a	32b	92a	32b	83a	32b	85a	32b
Envelhecimento acelerado (%)												
lotes	0h E4		24h E4		48h E4		72h E4		96h E4		120h E4	
L1	95a	37b	92a	37b	96a	37b	96a	37b	90a	37b	90a	37b
L2	89a	36b	88a	36b	94a	36b	92a	36b	87a	36b	91a	36b
L3	91a	06b	81a	06b	86a	06b	90a	06b	80a	06b	78a	06b
L4	91a	41b	91a	41b	96a	41b	84a	41b	87a	41b	87a	41b
Frio com terra (%)												
lotes	0h E4		24h E4		48h E4		72h E4		96h E4		120h E4	
L1	95a	00b	95a	00b	86a	00b	88a	00b	90a	00b	93a	00b
L2	96a	10b	93a	10b	91a	10b	88a	10b	93a	10b	94a	10b
L3	82a	00b	77a	00b	72a	00b	83a	00b	85a	00b	78a	00b
L4	92a	03b	89a	03b	94a	03b	91a	03b	88a	03b	89a	03b
Emergência de plântulas em campo (%)												
lotes	0h E4		24h E4		48h E4		72h E4		96h E4		120h E4	
L1	98a	10b	92a	10b	96a	10b	94a	10b	94a	10b	92a	10b
L2	94a	19b	94a	19b	92a	19b	96a	19b	94a	19b	95a	19b
L3	92a	06b	88a	06b	86a	06b	88a	06b	86a	06b	86a	06b
L4	96a	15b	96a	15b	94a	15b	96a	15b	90a	15b	90a	15b
Condutividade elétrica (µmhos/cm/g sementes)												
lotes	0h E4		24h E4		48h E4		72h E4		96h E4		120h E4	
L1	20a	38b	19a	38b	18a	38b	16a	38b	18a	38b	17a	38b
L2	23a	44b	23a	44b	25a	44b	24a	44b	23a	44b	22a	44b
L3	20a	37b	21a	37b	17a	37b	16a	37b	16a	37b	17a	37b
L4	22a	39b	23a	39b	18a	39b	19a	39b	17a	39b	18a	39b

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, F.H.; ROBERTS, E.H. Effects of temperature, moisture, and oxygen on the induction of cromossome damage in seeds of barley, broad beans, and pea during storage. **Annals of Botany**, Oxford, v.32, n.125, p.119-136, 1968.
- ABUL-BAKI, A.A. Relationship of glucose metabolism to germinability and vigour in barley and wheat seeds. **Crop Science**, v.9, p.732-737, 1969.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWISK, T.T. (Ed.) **Seed Biology: germination control, metabolism and pathology**. New York: Academic Press, 1972. v.2, n.4, p.283-315.
- AGRAWAL, P.K. Seed deterioration during storage. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PHYSIOLOGY, New Delhi, 1988. p.15-20.
- ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical differences in deteriorating barley seed. **Crop Science**, v.10, p.36-39, 1970.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**, Lincoln: AOSA, 1983 93p. (Contribution,32).

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

BRANDÃO JUNIOR, D.E. Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho. Lavras, 1996. 110p. Dissertação (M.S.) - Universidade Federal de Lavras.

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

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

BEWLEY, J.D. Membranes changes in seed as related to germination and perturbations resulting from deterioration in storage. In: McDonald JÚNIOR, M.B.; NELSON, C.J. (Ed.) **Physiology of seed deterioration**. Madison, CSSA, 1983. cap.2, p.27-45 (CSSA Special Publication, 11).

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

BLOWERS, L.E.; STORMONTH, D.A.; BRAY, L.M. Nucleic acid and protein synthesis and loss of vigour in germinating wheat embryos. **Planta**, v.150, p.19-25, 1980.

- CARRARO, D.M. Variação e herança dos padrões eletroforéticos em órgãos e estágios de desenvolvimento em milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1990. 121p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- CHAUHAN, K.P.S.; GOPINATHAN, M.C.; BABU, C.R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, v.13, p.629-641, 1985.
- CHERRY, J.P.; BEUCHAT, L. R.; KOEHLER, P.E. Soluble proteins and enzymes as indicators of change in peanuts infected with *Aspergillus flavus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, p.242-245, 1978.
- CHERRY, J.H.; SKADSEN, R.W. Nucleid acid and protein metabolism during seed deterioration. In: McDONALD JÚNIOR., M.B. ; NELSON, C.J. (Ed.) **Physiology of seed deterioration**, Madison, CSSA, 1983. cap. 4, p.65-88 (CSSA Special Publication, 11).
- CHING, T.M.; SCHOOLCRAFT, I. Physiological and chemical differences in aged seeds. **Crop Science**, v.8, p.407-409, 1968.
- CHING, T.M. Ageing stresses on physiological and biochemical activities of crimson clover (*Trifolium incarnatum* L. Var. Dixie) seeds. **Crop Science**, v.12, p. 415-418, 1972.
- CHING, T.M. Adenosine triphosphate and seed vigor. In: Khan A.A. (Ed.). **The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination**, New York: Elsevier, 1982. P.487-505.

COOLBEAR, P.; FRANCIS, A.; GRIERSON, D. The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and membrane integrity of artificially aged tomato seeds. **Journal of Experimental Botany**, v.35, p.1609-1617, 1984.

CÔME, D. Post harvest physiology of seeds as related to quality and germinability. In: LIEBERMANN, N. (Ed.) **Post Harvest: physiology and crop preservation**. New York, Plenum Press, 1983. cap.2, p.142-165.

COPELAND, L.O.; McDONALD JÚNIOR, M.B. **Principles of Seed Science and Technology**. New York, Mcmillan, 1985. 321p.

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

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

DELL' AQUILA, A. Wheat seed aging and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, v.4, p.293-298, 1994.

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

DELOUCHE, J.C. Standardization of vigor tests. **Journal of Seed Technology**, v.1, n.2, p.75-86, 1976.

GRABE, D.F. Measurement of seed vigor. **Journal of Seed Technology**, v.1, n.2, p.18-31, 1976.

GRAHAM, R.C.; LUNDHOLM, U.; KARNOVSKI, M.J. Cytochemical demonstration of peroxidase activity with 3-amino-9-ethylcarbazole. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v.13, p.150-152, 1964.

GANGULI, S.; SEN-MANDI, S. Some physiological differences between naturally and artificially aged wheat seeds. **Seed Science and Technology**, v.18, p.507-514, 1990.

HAMILL, D.E.; BREWBBAKER, J.L. Isoenzyme polymorphisms in flowering plants. IV The peroxidase isoenzymes of maize. **Physiology Plantarum**, v.22, p.945-58, 1969.

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

JENG, T.L.; SUNG J.M. Hydration effect on lipid peroxidation and peroxidase scavenging enzymes activity of artificially aged peanut seed. **Seed Science and Technology**, v.22, p.531-539, 1994.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; MIRANDA, Z.F.S. Relatório do Comitê de Vigor da ABRATES. **Informativo ABRATES**, v.1, n.1. p.7-25, 1990.

- McDONALD, M.B. A review and evaluation of seed vigor testes. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, v.65, p.109-139, 1975.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- MARTINEZ, C. Conditioning seed corn for volume and quality. **Seed World**, v.128, n.913, p.8-10,1990.
- McGEE, D.C. Introduction. In: SYMPOSIUM ON DETERIORATION MECHANISMS IN SEEDS; ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY, 73. New Orleans, 1981. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.21, p.314-315,1983.
- NAUTIYAL, A.R.; THAPLIYAL, A.P.; PUROHIT, A.N. Seed viability in sal. IV. Protein changes accompanying loss of viability in *Shorea robusta*. **Seed Science and Technology**, v.13, p.83-86,1985.
- NKANG, A. Some aspects of the biochemical basis of viability of loss in stored gukfoylia monostylis seeds. **Seed Science and Technology**, v.16, n.2, p.247-260, 1988.
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; VALARINI, M.J.; AZEVEDO, J.L.; ALFENAS, A.C. **Manual de técnicas eletroforéticas em microrganismos**. Piracicaba: FEALQ, 1988. 54p.

PERL, M.; LURIA, Y.; GELMOND, H. Biochemical changes in sorgum seeds affected by accelerated ageing. **Journal of Experimental Botany**, v.29, p.497-509, 1978.

PRIESLEY, D.A.; LEOPOLD, A.C. Lipid changes during natural ageing of soybean seeds. **Physiologia Plantarum**, v.59, p.467-470, 1983.

PRIESTLEY, D.A. **Seed ageing**. New York: Comstock Publication Association, 1986.

PRASAD, T.; PATHAK, S.S. Impact of various storage systems on biodeterioration of cereal. **Indian Phytopathology**, v.40, n.1, p.39-46, 1987.

RAJAGOPAL, A.S.M.; SEN-MANDI, S. Studies on acid alkaline phosphatases in age rice embryos. **Seed Science and Technology**, v.20, n.2, p. 215-222, 1992.

REUZEAU, C.; GOFFNER, D.; CAVALIE, G. Relation between protein composition and germination capacity of sunflower seeds. **Seed Science Research**, v.2, n.4, p.223-230, 1992.

ROBERTS, E.H. Cytological, genetical and metabolic changes associated with loss of viability. In: ROBERTS, E.H. (Ed.) **Viability of seed**. London: Chapman and Hall, 1972. p.253-306.

ROBERTS, E.H. Loss of viability, ultrastructural and physiological aspects. **Seed Science and Technology**, v.1, p.529-545, 1973.

- ROSS, E.E. Precepts of successful seed storage. In: McDONALD JÚNIOR, M.B.; NELSON, C.J. **Physiology of seed deterioration**. Madison, CSSA, 1983. cap.1, p.1-27 (CSSA Special Publication, 11).
- SANTIPRACHA, W.; SANTIPRACHIA, Q; WONGVARODOM, V. Hybrid corn seed quality and accelerated aging. **Seed Science and Technology**, v.25, p.203-208, 1997.
- SHATTERS JÚNIOR, R.G.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S.H. Soybean seed deterioration and response to priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. **Seed Science Research**, v.4,n.1, p.33-41, 1994.
- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical Methods**. 8.ed. Ames: Iowa State University Press, 1989. 503p.
- SOMEN NANDI, GITALI das; SWATI SEN-MANDI. β -amylase activity as an index for germination potencial in rice, **Annais of Botany**, v.75, p.463-467, 1995.
- SUNG J.M; JENG, T.L. Peroxides scavenging enzymes associated with accelerated ageing of peanut seeds. **Physiologia Plantarum**, (in press). 1994.
- THORUN, W.; MAURER, H.R. The molecular sieving effects in polyacrilamide gel. In: MAURER, H.R. (Ed.) **Disc electrophoresis and related techniques of polyacrilamide gel electrophoresis**. New York, Walter de Gruynter, 1971. 222p.

THRONEBERRY, G.O.; SMITH, K.G. Relation of respiratory and enzymatic activity to corn seed viability. **Plant Physiology**, v.30, p.862-868, 1955.

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

VALLEJOS, C.E. Enzyme activity staining. In: TANKSLEY, S.D.; ORTON, T.J. (Ed.) **Isozymes in plant genetics and breeding** Amesterdam, Elsevier, 1983. p.469-516.

VARIER, A.; DADLANI, M. Effects of ageing on profiles of soluble protein of cotton and esterase isoenzymes of pearl millet seeds. **Indian Journal of Plant Physiology**, v.35, n.2, p. 145-151, 1992.

VILLIERS, T.A. Ageing and the longevity of seeds in field conditions. In: HEYDECKER, W. (Ed.) **Seed Ecology**. Nottingham, ISA, Pennsylvania State University Press. 1973. p.265-288.

VIEIRA, M.G.G.C. Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras, 1996. 114p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras.

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

WALTER, J. Chemical reactivity of a macromolecule as function of its age.

Biochimica et Biophysica Acta, v.69, p.410-411, 1963.

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

ZINK, E. Vigor de sementes de milho. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2., Pelotas, 1986. **Anais**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1970. p.231-232.