



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA INFLUENCIADO
PELAS PARTES DE SEMENTES DE MILHO**

SARA GUEDES TEIXEIRENSE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

**BRASÍLIA-DF
OUTUBRO/2018**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA INFLUENCIADO PELAS PARTES DE SEMENTES DE MILHO

SARA GUEDES TEIXEIRENSE

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fagioli

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

**BRASÍLIA-DF
OUTUBRO/2018**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA INFLUENCIADO PELAS PARTES DE SEMENTES DE MILHO

SARA GUEDES TEIXEIRENSE

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDO À FACULDADE DE AGRONOMIA E
MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB, COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
AGRONOMIA.**

APROVADO POR:

**MARCELO FAGIOLI, Professor, Eng. Agrônomo Doutor, FAV - Universidade de
Brasília, UnB - Orientador, mfagioli@unb.br**

**NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA, Professora, Eng^a. Agrônoma Doutora, FAV -
Universidade de Brasília, UnB - Examinadora Interna, narasouza@unb.br**

**ROSANA DE CARVALHO CRISTO MARTINS, Professora, Eng^a. Florestal Doutora,
FT - Universidade de Brasília, UnB - Examinadora Externa, roccristo@gmail.com**

Brasília-DF, 01 de outubro de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, pelos ensinamentos e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

Dedico ao meu namorado, pela cumplicidade, carinho e paciência.

AGRADECIMENTOS

À minha família, Wilma Teixeirese, Marden Teixeirese e Felipe Teixeirese pelo amor e suporte incondicional.

À minha querida e saudosa avó materna Maria Júlia, quem muito me ensinou.

Ao meu professor Marcelo Fagioli pela orientação, paciência, dedicação e amizade.

À Maria Arminda, pelas oportunidades, ensinamentos, paciência, dedicação e amizade.

À Universidade de Brasília e aos professores da FAV, pelas experiências e aprendizados compartilhados.

À Monsanto do Brasil Ltda. e colegas, pelo suporte, oportunidades, transformações e aprendizados.

À banca examinadora, Dra. Nara Souza e Dra. Rosana Martins pela paciência e disponibilidade em ensinar e ajudar.

Ao meu namorado Carlos Magno pela cumplicidade, carinho e paciência.

Aos meus amigos queridos, pelo apoio e amizade.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 2 |
| 2.1. Geral | 2 |
| 2.2. Específicos | 2 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 3.1. A cultura do milho | 3 |
| 3.2. Qualidade de sementes | 4 |
| 3.3. Princípio do teste de condutividade elétrica | 5 |
| 3.4. Teste de lixiviação de potássio | 6 |
| 3.5. Condicionamento fisiológico de sementes | 7 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 9 |
| 4.1. Local de desenvolvimento da pesquisa | 9 |
| 4.2. Genótipos utilizados na pesquisa | 9 |
| 4.3. Metodologia da separação das sementes em partes | 9 |
| 4.4. Avaliações experimentais | 12 |
| 4.4.1. Determinação do teor de água das sementes (TA) | 12 |
| 4.4.2. Teste padrão de germinação (TPG) em rolo de papel | 12 |
| 4.4.3. Envelhecimento acelerado (EA) | 13 |
| 4.4.4. Teste de condutividade elétrica (CE) | 13 |
| 4.4.5. Estresse controlado (EC) | 13 |
| 4.4.6. Revigoração das sementes (RS) | 14 |
| 4.4.7. Teste de lixiviação de potássio (LIXK) | 14 |
| 4.4.8. Sequência dos tratamentos utilizando os testes de condutividade elétrica (CE) e de lixiviação de potássio | 15 |
| 4.5. Análise estatística | 15 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 5.1. Considerações finais | 31 |
| 6. CONCLUSÃO | 31 |
| 7. REFERÊNCIAS | 33 |

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal investigar a influência das partes de sementes de milho (pericarpo, endosperma, embrião e meia semente) através da lixiviação de eletrólitos na solução de embebição avaliada pelo teste de condutividade elétrica. As sementes inteiras e as partes de sementes foram avaliadas, utilizando o teste de condutividade elétrica (CE) comparativamente ao estresse controlado (EC), ao revigoramento de sementes (RS) e ao teste de lixiviação de potássio (LIXK). Para tanto, utilizaram-se cinco genótipos experimentais de híbridos de milho submetidos aos testes padrão de germinação, envelhecimento artificial, determinação do teor de água, CE, além da avaliação através do EC, de RS e da LIXK. Os valores de condutividade elétrica foram obtidos através de condutímetro, após 6 e 24 horas de embebição a 25°C, e a quantidade de potássio lixiviado foi avaliada em fotômetro de chama após medição de condutividade elétrica. As avaliações realizadas em partes de sementes mostraram-se adequadas para a diferenciação de qualidade fisiológica entre os diferentes genótipos com níveis semelhantes de vigor, com destaque para as sementes seccionadas ao meio, constituindo-se de método simples e rápido para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes dos genótipos. Pela interpretação dos resultados pode-se concluir que as partes de sementes de milho apresentam diferentes quantidades de lixiviados no teste de condutividade elétrica e na lixiviação de potássio. O embrião é a parte de semente que mais influencia nos lixiviados das sementes de milho, seguida do pericarpo, meia semente e endosperma. O revigoramento das sementes contribuiu com a recuperação da qualidade fisiológica em sementes inteiras e em partes das sementes de milho, após estresse controlado.

Palavras-chave: *Zea mays* L., deterioração das membranas celulares, eletrólitos celulares, teste de vigor.

ABSTRACT

The main objective of this work was to investigate the influence of maize seed parts (pericarp, endosperm, embryo and half seed) through electrolytes leaching in the imbibition solution evaluated by the electrical conductivity test. Whole seed and seed parts were evaluated using the electrical conductivity test (CE) in comparison to seed controlled stress (EC), seed priming (RS) and potassium leaching tests (LIXK). Five experimental hybrid maize genotypes were submitted to germination, accelerated aging, seed moisture, CE, as well as seed EC, seed RS and LIXK. The electrical conductivity was evaluated through a conductivity meter after 6 and 24 hours of imbibition at 25°C. The amount of leached potassium was evaluated in a flame photometer after electrical conductivity. The evaluations performed on seed parts were suitable for physiological quality identification between maize genotypes, especially for half seed, thus proving to be a simple and rapid method for seed vigor evaluation. For the interpretation of the results it can be concluded that the parts of maize seed present different amounts of leachates in the electrical conductivity test and the leaching of potassium. The embryo is the part of seed that most influences the leachates of maize seed, followed by the pericarp, half seed and endosperm. Seed reinvigoration contributed to the recovery of physiological quality in whole seed and parts of maize seed after EC.

Key-words: *Zea mays* L., cell membranes deterioration, cell electrolytes, vigor test.

1. INTRODUÇÃO

O principal aumento da demanda de sementes de qualidade na lavoura de milho é devido ao interesse constante do produtor em garantir a produtividade em campo com estande uniforme de plantas. As empresas produtoras de sementes têm investido em novas tecnologias no mercado de sementes, através de programas de melhoramento genético, visando o desenvolvimento de sementes de híbridos de milho de elevada qualidade e produtividade.

Sendo assim, as empresas buscam avaliações rápidas e eficientes de vigor de sementes para escolha dos melhores lotes para comercialização e descarte dos lotes de baixo vigor. Dos diversos métodos utilizados para identificar diferenças de vigor em diferentes lotes de sementes e estimar o desempenho das sementes em campo, destaca-se o teste de condutividade elétrica (CE).

Enquanto que o teste de germinação avalia, em condições ideais, a capacidade das sementes de produzir plântulas normais, nem sempre revelando as diferenças de desempenho entre os lotes de sementes. Dessa forma, o CE apresenta avaliações de laboratório mais sensíveis, fornecendo maiores informações em relação as condições atuais e ao futuro desempenho da semente em campo. Trata-se de um teste rápido, de baixo custo, padronizado, que fornece informações objetivas e cujos resultados podem ser reproduzíveis.

No CE o vigor está diretamente relacionado com a integridade do sistema de membranas celulares. É classificado como teste bioquímico, o qual determina que sementes com menor vigor apresentam menor velocidade de restabelecimento da integridade das membranas celulares quando embebidas em solução.

Sabe-se que as sementes de soja quando avaliadas pelo teste de CE perdem uma grande quantidade de eletrólitos para a água de embebição, conseguindo separar os lotes em diferentes níveis de vigor. Contudo, para sementes de milho a quantidade de lixiviados celulares é muito inferior à soja, deste modo, a exposição de partes da semente pode contribuir para identificar melhor a diferença de qualidade dos lotes.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Verificar a influência das partes de sementes de milho (pericarpo, endosperma, embrião e meia semente) através da lixiviação de eletrólitos na solução de embebição medida pela condutividade elétrica.

2.2. Específicos

1. Determinar a quantidade de lixiviados da solução de embebição de partes de sementes de milho pelo teste de condutividade elétrica;
2. Avaliar quais partes das sementes reagiram ao revigoramento das sementes após estresse controlado;
3. Avaliar através da lixiviação de potássio a contribuição das partes da semente no teste de condutividade elétrica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) espécie pertencente à família *Poaceae*, é originário do México e possui como parente selvagem o Teosinto. Evidências indicam que a domesticação da espécie ocorreu entre 7 mil e 10 mil anos atrás, por americanos nativos que através de intensa seleção de características importantes durante milhares de anos, tornaram o milho o principal cultivo de importantes civilizações, como a dos astecas, maias e incas. Resultando em uma espécie de grande importância econômica mundial na atualidade e uma das mais estudadas (BARBOSA-NETO et al., 2008).

Em 2017, o milho foi o grão mais produzido no mundo com produção aproximada de 1,0 bilhão de toneladas. Na Safra 2017/2018 os três principais países produtores foram Estados Unidos, China e Brasil, tendo o Brasil produzido aproximadamente 92 milhões de toneladas em 17 mil hectares na Safra 2017/2018 (FAO, 2017; CONAB, 2018).

Cabe ressaltar que a elevada produção da cultura no Brasil justifica-se pela sua ampla utilização não só como alimento humano e animal, mas também através da sua utilização na indústria que vem incrementando o emprego do milho como insumo na fabricação de produtos, tais como amido, itens biodegradáveis, etanol e adoçantes. Para todas as finalidades têm importância à qualidade nutricional, correspondente à composição do grão (DUARTE et al., 2006; OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2008).

Dessa forma, é de extrema importância a pesquisa científica, a qual vem contribuindo decisivamente não só para o aumento da qualidade, como também para o aumento do rendimento de grãos na cultura do milho, através de programas de melhoramento genético realizados pelas empresas privadas ou instituições públicas.

Para isto, a pesquisa tem se concentrado em estratégias de biotecnologia somada à conservação de recursos. Sendo a biotecnologia uma ferramenta tecnológica essencial para manter e aumentar a taxa de ganhos de produtividade na produção agrícola no Brasil atualmente e para os próximos anos. A maior parte do progresso buscado pela biotecnologia, objetiva aumentar a eficiência da própria semente, tendo como exemplo o desenvolvimento de novos híbridos geneticamente modificados, que

apresentam tolerância a herbicidas e resistência a insetos, ou híbridos tolerantes a estresse causado pela seca (CTNBio, 2018).

As sementes dos novos híbridos disponíveis no mercado apresentam alta qualidade, influenciando diretamente a produtividade da lavoura. Ou seja, para que os altos níveis de produção sejam atingidos, visando redução de áreas, conservação e sustentabilidade do meio ambiente a escolha das sementes a serem plantadas é primordial (PESKE; LEVIEN, 2005).

3.2. Qualidade de sementes

A qualidade da semente é definida pelos atributos de qualidades genética, física, fisiológica e sanitária, os quais lhe confere a garantia de um elevado desempenho agrônomo, base para o sucesso da lavoura (FRANCA-NETO; HENNING, 1984).

A semente de alta qualidade deve apresentar características fisiológicas e sanitárias, tais como: Altas taxas de vigor e de germinação (viabilidade) e sanidade, ou seja, emergência e uniformidade em campo e não apresentar doenças; Bem como, pureza física e varietal, isto é, não apresentar contaminação com invasoras indesejadas e material inerte. Esses fatores resultam no desempenho ideal da semente no campo, garantindo estande de plantas, aspecto fundamental para que sejam alcançados altos níveis de produtividade (HAMPTON, 1995).

Dentre os atributos de qualidade, destaca-se o potencial fisiológico das sementes, pois este gere a capacidade das sementes em expressar suas funções vitais sob condições ambientais favoráveis e desfavoráveis, sendo diretamente responsável pelo desempenho no campo e também pela manutenção da qualidade das sementes após a colheita, em condições adequadas de armazenamento (MARCOS-FILHO, 2015).

Marcos-Filho (1999) cita que além de pesquisas dirigidas ao estudo de testes para a determinação da viabilidade, diversos trabalhos tem-se concentrado em métodos para a avaliação do vigor. Tendo em vista que, a utilização apenas de testes de germinação para a determinação de qualidade fisiológica de lotes de sementes tem apresentado resultados divergentes em

relação ao desempenho das sementes no campo, sob diversas condições ambientais.

Segundo definição da AOSA (1983), o termo vigor pode ser entendido como a soma de propriedades que determinam o potencial de emergência rápido e uniforme e desenvolvimento de plântulas normais no campo sob ampla gama de condições ambientais.

Dos diversos métodos utilizados para identificar diferenças de vigor em diferentes lotes de sementes e estimar o desempenho das sementes em campo destaca-se o teste de condutividade elétrica.

3.3. Princípio do teste de condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica (CE) foi criado na década de 1960 através do avanço do conhecimento sobre os principais eventos do processo de deterioração de sementes. Destacaram-se estudos focados na integridade das membranas celulares e peroxidação lipídica (ABREU et al., 2011).

De acordo com Carvalho et al. (2009), durante o processo de maturação da semente, até atingir o ponto de maturidade fisiológica, inúmeras transformações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e funcionais acontecem. Destacando o desenvolvimento das membranas celulares, as quais são as últimas a se organizarem durante o processo de maturação e as primeiras a apresentarem sinais de deterioração após a maturidade fisiológica.

No decorrer da secagem natural da semente, ocorre uma desorganização estrutural das membranas celulares, estando mais desorganizadas quanto menor o teor de água na semente e perdendo temporariamente, a sua integridade organizacional. Na fase inicial do processo de embebição, a capacidade da semente de reorganizar o sistema de membranas celulares e reparar danos físicos e/ou biológicos, que podem ter ocorrido durante o processo de produção, influenciará na quantidade e natureza de lixiviados liberados para o meio externo (POPINIGIS, 1977; MARCOS-FILHO, 1982; HEYDECKER, 1972; BEWLEY, 1986; SIMON; RAJA-HARUM, 1972; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Dessa forma, as leituras dos valores de condutividade elétrica das soluções de imersão medem a intensidade da corrente elétrica entre dois pontos, determinada pela quantidade de lixiviados, indicando o nível de

organização do sistema de membranas celulares e, indiretamente, o nível de vigor da amostra de sementes. Os trabalhos dos autores Carvalho (2009) e Vieira (1994) corroboram que, quanto maior a velocidade de restabelecimento da integridade das membranas, menor será a quantidade de lixiviados liberados para o meio externo, conseqüentemente, menor será o valor de condutividade elétrica e, portanto maior o vigor da semente. Por conseguinte, os lixiviados variam em quantidade e tipo, como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, enzimas e íons inorgânicos, como potássio (K^+), Cálcio (Ca^{++}), Magnésio (Mg^{++}) e Sódio (Na^+) (VIEIRA, 1994; FAGIOLI, 2001; SILVA et. al, 2014).

É importante ressaltar, que embora o CE seja classificado como um teste bioquímico envolve dois princípios: físico e biológico. Princípio físico porque a avaliação do vigor, baseada na determinação da condutividade elétrica da solução de embebição da semente, ocorre através da passagem de corrente elétrica em determinada solução. Por outro lado, para que ocorra a lixiviação e a determinação de condutividade elétrica, ocorreram alterações na integridade das membranas celulares, em função do grau de deterioração, ou seja, ocorreram alterações bioquímicas, permitindo, assim, a perda de quantidades de diferentes lixiviados, em função do vigor da semente (WOODSTOCK, 1973; AOSA, 1983).

O CE tem sido utilizado para avaliar o vigor de sementes de algodão, ervilha, café, girassol, feijão, soja, milho e várias outras espécies. Sendo uma ferramenta de fundamental importância utilizada rotineiramente em programas internos de controle de qualidade de sementes, especialmente para as culturas de grãos e hortaliças. (HERTER; BURRIS, 1989; BRUGGINK et al., 1991; BILIA et al., 1994; FAHL et al. 1994; VIEIRA, et al., 1994; VON PINHO, et al. 1996; FAGIOLI, 1997; MARCOS-FILHO, 2015).

3.4. Teste de lixiviação de potássio

O teste de lixiviação de potássio (LIXK) tem princípio semelhante ao de condutividade elétrica, com a diferença de que no LIXK, quantificam-se somente os valores de K lixiviado na solução. O K é o principal íon liberado pelas sementes durante a embebição, seguido pelo Na e Ca. (MIGUEL; MARCOS-FILHO, 2002). Resultado também constatado por Alves et. al.

(2004), que demonstraram que a lixiviação de K foi mais acentuada do que a dos íons Ca, Zn, Mn, Cu, Fe e Mg em sementes de milho.

O LIXK tem sido utilizado como um indicador da integridade das membranas celulares, demonstrando ser um índice rápido de avaliação do vigor de sementes de algumas espécies, como ervilha, algodão, feijão, milho e tomate (SIMON; RAJA-HARUN, 1972; WOODSTOCK et al., 1985; BARROS et al., 1999; PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 2001; MIGUEL; MARCOS-FILHO, 2002; VANZOLINI; NAKAGAWA, 2003).

3.5. Condicionamento fisiológico de sementes

A técnica do condicionamento osmótico de sementes desenvolvida por Heydecker et al. (1972), tem como objetivo reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência das plântulas, através das sementes submetidas à uma hidratação controlada o suficiente para que os processos respiratórios essenciais à germinação ocorram, porém insuficiente para propiciar a protrusão da radícula, sob temperaturas baixas ou moderadas (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2008).

O processo de hidratação nas sementes ocorre de maneira desuniforme entre as partes de uma semente, considerando os diferentes tecidos existentes na semente. A sequência crescente de absorção de água para o milho se dá pelo pericarpo, endosperma e embrião, ressaltado por Carvalho e Nakagawa (2012), que demonstraram que a maior absorção ocorre pelos tecidos meristemáticos, tecido reserva e tegumento, dado que os pontos de crescimento embrionário são centros ativos do vigor e mais sensíveis à absorção. Ainda, Hegarty (1978) esclarece que para cada tipo de semente existem diferentes níveis de hidratação, ou potenciais de água críticos, que, controlam a embebição, a expansão e a divisão celular.

Trabalho desenvolvido pelos autores Nawaz et al. (2013), utilizando o condicionamento osmótico, condicionamento hídrico, “*seed priming*” ou revigoração de sementes, mostrou papel importante em ganhos de produção de 37%, 40%, 70%, 22%, 31% em cultivos de trigo, cevada, arroz, milho e sorgo, respectivamente.

Ainda, segundo os autores Balbinot e Lopes (2006), as várias técnicas de hidratação de sementes podem influenciar a resposta ao condicionamento

fisiológico, portanto, o condicionamento pode ser realizado através de diferentes formas, tais como embebição em água, utilização de géis, que atuam como substâncias protetoras do eixo embrionário, hidratação de sementes em soluções de baixo potencial hídrico de solutos orgânicos e inorgânicos, ou por meio da embebição das sementes em meio sólido. A autora Pallaoro (2016) trabalhando com sementes de milho condicionadas com polietilenoglicol imersas em solução não aerada, imersas em solução aerada e embebidas em meio sólido (rolo de papel), concluiu que o uso de rolo de papel elevou a qualidade de sementes de milho.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de desenvolvimento da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Sementes, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV), da Universidade de Brasília, UnB, em Brasília-DF.

4.2. Genótipos utilizados na pesquisa

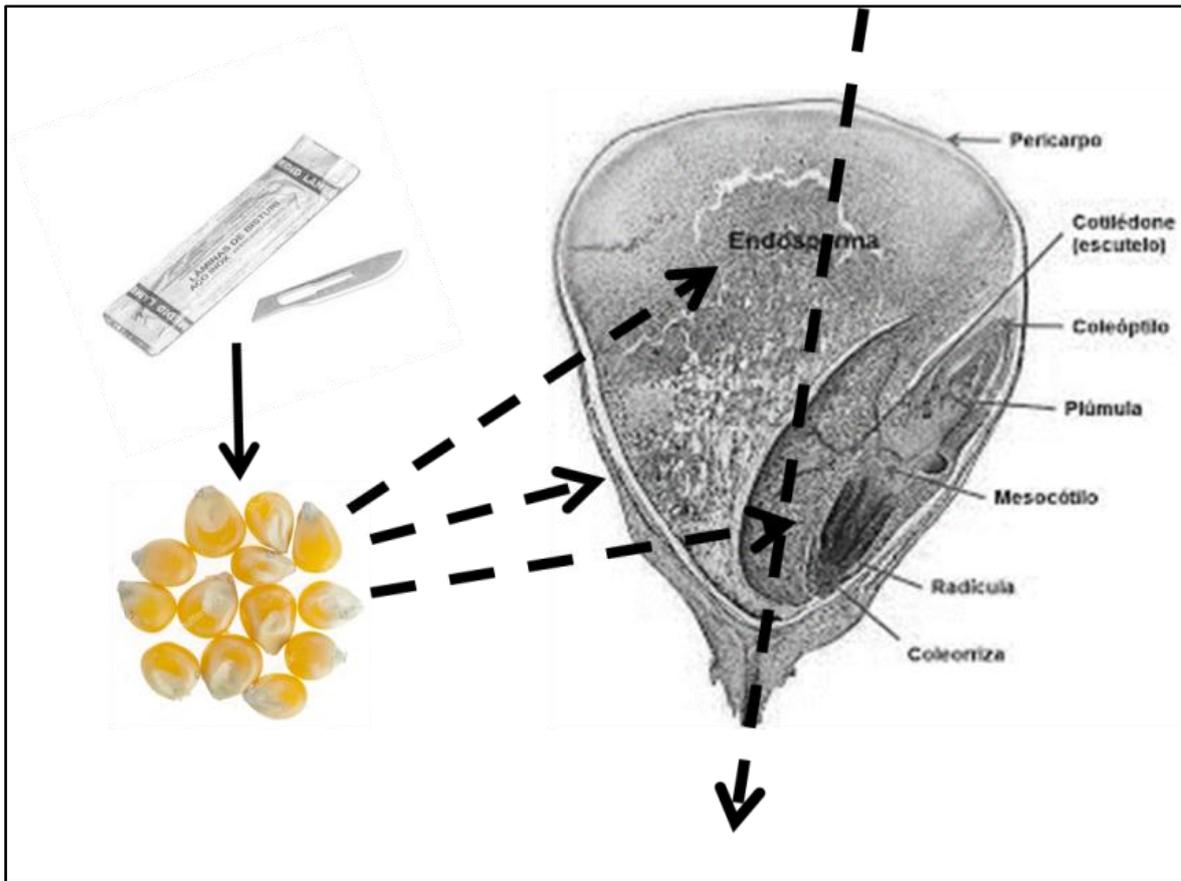
Os genótipos experimentais utilizados no desenvolvimento da pesquisa foram híbridos simples de milho e híbrido triplo de milho. Foram utilizados os genótipos experimentais de híbridos de milho A, B, C, D e E, das empresas Limagrain, Syngenta e Monsanto, colhidos na Safra 2016/2017 no ponto de maturidade fisiológica e classificados em peneira 24 e 22. O genótipo experimental E teve suas sementes tratadas para fins de armazenamento com sub-doses de Tiametoxam, Clotianidina, Fludioxonil + Metalaxyl-M e corante vermelho por lei.

4.3. Metodologia da separação das sementes em partes

As amostras das sementes dos genótipos experimentais de híbridos de milho foram preparadas para secção através do condicionamento em folhas de papel filtro umedecidas, por um período de 9 horas a 25°C em câmara de germinação tipo BOD, previamente regulada.

Após este período, as sementes foram cuidadosamente separadas em partes, com o uso de estilete cirúrgico, em pericarpo, endosperma, embrião e em sementes seccionadas ao meio (corte longitudinal) (Figuras 1, 2, 3 e 4).

Após a secção das sementes, suas partes foram pesadas separadamente em balança de precisão de três casas decimais e colocadas para embeber, em copo plástico, contendo 75 mL de água destilada-deionizada, por períodos de 6 horas a 25°C e de 24 horas a 25°C. Após os períodos de embebição foi realizado o teste de condutividade elétrica (Figura 5).



Fonte: Teixeira (2018)

Figura 1. Metodologia de separação das sementes de milho em partes, seccionadas com estilete cirúrgico.



Fonte: Teixeira (2018)

Figura 2. Estilete cirúrgico e partes da semente: pericarpo, embrião e endosperma.



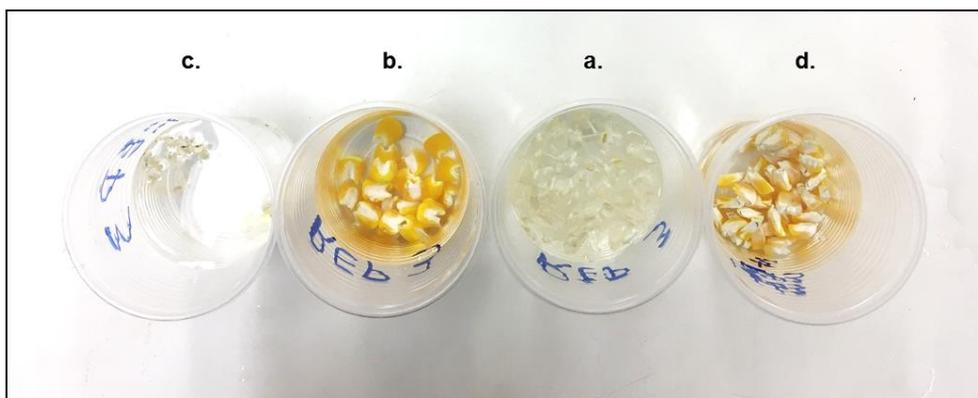
Fonte: Teixeira (2018)

Figura 3. Sementes seccionadas em partes: **a.** pericarpo; **b.** endosperma; **c.** embrião e **d.** meia semente.



Fonte: Teixeira (2018)

Figura 4. Sementes seccionadas em partes lado a lado: **a.** pericarpo; **b.** endosperma; **c.** embrião e **d.** meia semente.



Fonte: Teixeira (2018)

Figura 5. Preparo das partes das sementes para realização do teste de condutividade elétrica: a. pericarpo; b. endosperma; c. embrião e d. meia semente.

4.4. Avaliações experimentais

Foram realizadas as seguintes avaliações experimentais: teor de água (TA) inicial e após o envelhecimento das sementes, teste padrão de germinação em rolo de papel (TPG), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) de sementes inteiras e das partes de sementes (pericarpo, endosperma, embrião e meia semente), estresse controlado (EC), revigoramento das sementes (RS) e teste de lixiviação de potássio (LIXK).

4.4.1. Determinação do teor de água das sementes (TA)

Para determinação do TA foi utilizado o método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24 horas, antes e após o envelhecimento das sementes. As sementes dos genótipos foram pesadas em balança com precisão de 0,001g. Os dados foram estimados em porcentagem de base úmida de teor de água (BRASIL, 2009).

4.4.2. Teste padrão de germinação (TPG) em rolo de papel

As sementes dos genótipos foram colocadas em rolos de papel de germinação - Germitest[®], embebidos com água destilada-deionizada na quantidade de 2,5 vezes o peso do substrato seco, a uma temperatura de 25°C , em câmara de germinação tipo BOD, previamente regulada. A contagem foi realizada cinco dias após montagem do teste, avaliando a porcentagem de plântulas normais, conforme os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

4.4.3. Envelhecimento acelerado (EA)

As sementes dos genótipos foram distribuídas, em única camada uniforme, sobre uma tela de aço inoxidável, isolando-as de 40 mL de água destilada-deionizada, em caixas plásticas transparentes, dimensões de 10,5 cm x 10,5 cm x 3,0 cm. Para realização do EA foi utilizada a condição de 45°C por 72 horas. As caixas foram acondicionadas em câmara de germinação tipo BOD, previamente regulada (MARCOS-FILHO, 1999; FESSEL et al., 2005).

4.4.4. Teste de condutividade elétrica (CE)

As sementes dos genótipos inteiras e as partes seccionadas (pericarpo, endosperma, embrião e meia semente) foram pesadas, colocadas para embeber em copos plásticos, contendo 75 mL de água destilada-deionizada, e expostas a temperatura de 25°C por 6 horas e a temperatura de 25°C por 24 horas, em câmara de germinação tipo BOD, previamente regulada.

Para as sementes inteiras foram realizadas quatro repetições de 50 sementes, por genótipo, para medição dos períodos de embebição do CE normal a 25°C por 6 horas e por 24 horas, do CE a 25°C por 6 horas após EC e do CE a 25°C por 6 horas após RS (AOSA, 1983; LOEFFLER et. al, 1988; VIEIRA; KRZYZANOWSKY, 1999).

Para as partes seccionadas foram realizadas quatro repetições de 25 sementes, por genótipo, para medição dos períodos de embebição do CE normal a 25°C por 6 horas e por 24 horas, do CE a 25°C por 6 horas após EC e do CE a 25°C por 6 horas após RS.

Após os tratamentos e períodos de embebição expostos foram realizadas as leituras do CE para as sementes inteiras e partes seccionadas utilizando o condutímetro digital modelo CG 2000, da marca Gehaka, de eletrodo constante 1,0. Os resultados finais foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

4.4.5. Estresse controlado (EC)

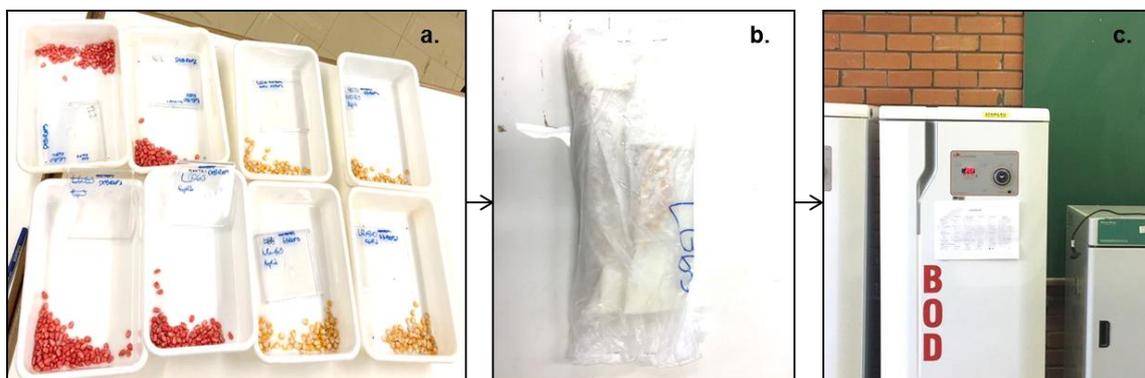
As sementes dos genótipos foram distribuídas, em única camada uniforme, sobre uma tela de aço inoxidável, isolando-as de 60 mL de água destilada-deionizada, em caixas plásticas transparentes, dimensões de 10,5 cm x 10,5 cm x 3,0 cm. Para realização do EC foi utilizada a condição de 45°C por 48 horas, com a finalidade de causar um nível de estresse controlado,

provocando redução do vigor das sementes. As caixas foram vedadas com papel filme para não perder umidade, e acondicionadas em câmara de germinação tipo BOD, previamente regulada. Após EC foram realizadas a secção das sementes e as medições de CE conforme período e temperatura descritos no item 4.4.4. das sementes inteiras e das partes seccionadas.

4.4.6. Revigoração das sementes (RS)

Após EC as sementes dos genótipos foram submetidas ao RS através do condicionamento hídrico em rolos de papel de germinação - Germitest[®] umedecidos com água destilada-deionizada na quantidade de 2,5 vezes o peso do substrato seco, a uma temperatura de 25°C por 24 horas, em câmara de germinação tipo BOD, previamente regulada (Figura 6).

Após o período de RS, foram realizadas a secção das sementes e as medições de CE conforme período e temperatura descritos no item 4.4.4. das sementes inteiras e das partes seccionadas, para avaliação das estruturas das sementes que revigoraram em comparação às testemunhas não submetidas ao RS. Os procedimentos de condicionamento hídrico seguiram as recomendações de Waters Jr. (1987) e Tilden e West (1985).



Fonte: Teixeira (2018)

Figura 6. Esquema de sementes submetidas ao RS: **a.** preparo das sementes após EC; **b.** umedecimento em substrato úmido; **c.** RS em câmara de germinação tipo BOD a 25°C por 24 horas.

4.4.7. Teste de lixivação de potássio (LIXK)

Após as leituras dos períodos de embebição do CE normal, do CE após EC e do CE após RS, as soluções de embebição provenientes das sementes inteiras e das partes seccionadas (pericarpo, endosperma, embrião e

meia semente) dos genótipos, foram colocadas em tubos tipo Falcon, com capacidade de 15 mL, armazenadas em câmara fria e posteriormente submetidas para quantificação dos lixiviados de potássio através do fotômetro de chama B 462 Micronal. Os resultados finais foram expressos em mg/g (HAMPTON; TEKRONY, 1995; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

4.4.8. Sequência dos tratamentos utilizando os testes de condutividade elétrica (CE) e de lixiviação de potássio

1. Sementes inteiras e partes da semente → (CE 25°C 6 h⁻¹) → (LIXK)
2. Sementes inteiras e partes da semente → (CE 25°C 24 h⁻¹) → (LIXK)
3. Sementes estressadas (médio/baixo vigor) → Sementes inteiras e partes da semente → (CE 25°C 6 h⁻¹) → (LIXK)
4. Sementes revigoradas após estresse → Sementes inteiras e partes da semente → (CE 25°C 6 h⁻¹) → (LIXK)
5. LIXK após cada avaliação do CE de sementes inteiras e partes das sementes.

4.5. Análise estatística

Foi adotado o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), sendo realizadas quatro repetições por genótipo experimental de milho para todas as avaliações. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade (BANZATTO; KRONKA, 1995). Os dados foram analisados pelo software “AgroEstat” (BARBOSA; MALDONADO-JUNIOR, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização inicial dos genótipos experimentais de sementes de milho é indicada na Tabela 1 através dos resultados do teor de água (TA) antes e após o envelhecimento acelerado (EA) e da germinação de plântulas normais na contagem do teste padrão de germinação (TPG) e após o envelhecimento acelerado.

Os valores do TA para todos os genótipos encontraram-se na faixa recomendada para a realização do teste de condutividade elétrica (CE), demonstrando uniformização do TA das sementes, o que é fundamental para a padronização das avaliações e obtenção de resultados confiáveis e consistentes (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Os valores de germinação observados entre os genótipos de 94% a 98%, não apresentaram diferença estatística significativa e encontraram-se acima do padrão para produção e comercialização de sementes de híbrido de milho (porcentagem mínima de germinação de 85%), nas classes de sementes C1 - certificada e S1 - sementes, ambas de primeira geração, conforme estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005).

Segundo os autores ISTA (1995), Marcos-Filho (1999), Marcos-Filho (2015) e Carvalho e Nakagawa (2012), não havendo diferenças significativas sobre a germinação dos genótipos (Tabela 1), verificou-se a necessidade de complementar os resultados de qualidade fisiológica, através da avaliação dos testes de vigor EA e CE.

Tabela 1. Médias do teor de água e teste padrão de germinação antes e após envelhecimento acelerado, em %, de sementes de híbridos de milho por genótipo experimental.

| Genótipo | TA | TA após EA | Germinação | |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | | | TPG | EA |
| A | 10,17 a | 18,05 a | 94 a | 84 a |
| B | 10,30 a | 19,63 a | 96 a | 93 a |
| C | 10,10 a | 17,01 a | 99 a | 98 a |
| D | 9,90 a | 15,75 a | 98 a | 38 b |
| E | 9,94 a | 17,02 a | 98 a | 87 a |
| Teste F | 3,33 ^{NS} | 2,89 ^{NS} | 1,59 ^{NS} | 39,51 ^{**} |
| DMS (5%) | 0,52 | 4,83 | 6,93 | 16,72 |
| CV (%) | 1,28 | 6,88 | 3,29 | 9,58 |

[†] Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e ^{**}valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Os resultados após EA dos genótipos A, B, C e E não apresentaram diferenças estatísticas significativas, indicando porcentagem de germinação e nível de vigor semelhante, com exceção do genótipo D, pois apresentou menor porcentagem de germinação em relação aos demais genótipos. Segundo AOSA (1983), a redução da viabilidade no EA caracteriza menor vigor das sementes avaliadas, indicando assim o genótipo D como de menor vigor. Ainda, verificou-se que os resultados concordam com os autores Fessel et al. (2000) e Bittencourt e Vieira (2006) que sugerem a utilização da combinação de 45°C por 72 h como sendo a mais adequada na condução do EA, visando distinguir os níveis de vigor entre lotes distintos de milho.

As Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6 contêm os resultados referentes aos valores de lixiviados comparados entre sementes inteiras e partes de sementes (meia semente, pericarpo, endosperma e embrião) dos genótipos experimentais A, B, C, D e E, nos tratamentos aplicados. Em que os resultados do CE apresentaram valores de F significativos para as interações períodos de embebição, estresse controlado (EC) e revigoramento de sementes (RS).

Tabela 2. Valores dos testes de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LIXK) a 25°C por períodos de embebição (6 horas e 24 horas), após estresse controlado (EC) e após revigoramento de sementes (RS), das sementes inteiras e partes das sementes do genótipo A de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| GENÓTIPO A | CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------------------|---------|------------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
| | Normal | LIXK | Normal | LIXK | EC | LIXK | RS | LIXK |
| | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 24h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | |
| $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | | | | | |
| Semente inteira | 15,45 c | 59,50 a | 23,21 d | 111,00 b | 10,46 c | 18,50 c | 6,00 c | 38,00 bc |
| Meia semente | 45,23 c | 82,00 a | 70,93 c | 188,00 a | 41,35 c | 117,50 a | 27,25 c | 81,50 a |
| Pericarpo | 198,42 b | 44,75 a | 295,58 b | 56,50 b | 253,43 b | 54,50 bc | 98,14 b | 20,00 c |
| Endosperma | 36,12 c | 54,75 a | 49,14 cd | 99,00 b | 29,91 c | 64,00 b | 23,34 c | 48,50 b |
| Embrião | 373,03 a | 67,00 a | 560,10 a | 177,50 a | 362,14 a | 123,50 a | 138,26 a | 63,50 ab |
| Teste F | 287,39** | 1,31NS | 1133,20** | 14,53** | 152,12** | 21,80** | 84,48** | 13,17** |
| DMS (5%) | 39,24 | 53,24 | 29,69 | 63,50 | 56,22 | 41,54 | 26,98 | 28,35 |
| CV (%) | 13,45 | 39,58 | 6,81 | 23,00 | 18,46 | 25,16 | 21,09 | 25,81 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3. Valores dos testes de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LIXK) a 25°C por períodos de embebição (6 horas e 24 horas), após estresse controlado (EC) e após revigoramento de sementes (RS), das sementes inteiras e partes das sementes do genótipo B de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| GENÓTIPO B | CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------------------|---------|------------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|---------|
| | Normal | LIXK | Normal | LIXK | EC | LIXK | RS | LIXK |
| | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 24h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | |
| $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | | | | | |
| Semente inteira | 10,92 d | 25,25 a | 16,84 b | 81,00 b | 7,23 c | 14,50 d | 4,00 d | 19,50 b |
| Meia semente | 29,93 c | 34,00 a | 45,75 b | 98,00 ab | 35,34 c | 86,00 b | 22,18 c | 65,50 a |
| Pericarpo | 190,09 b | 28,00 a | 193,49 a | 151,50 a | 212,70 b | 42,50 c | 71,36 b | 17,00 b |
| Endosperma | 27,87 c | 30,00 a | 42,55 b | 63,50 b | 29,97 c | 60,50 c | 20,55 cd | 53,25 a |
| Embrião | 241,80 a | 33,50 a | 286,43 a | 64,00 b | 364,97 a | 117,50 a | 91,16 a | 55,00 a |
| Teste F | 787,73** | 0,75NS | 20,54** | 8,81** | 172,78** | 74,65** | 85,20** | 60,99** |
| DMS (5%) | 16,74 | 18,65 | 113,19 | 53,51 | 51,49 | 20,01 | 17,66 | 12,44 |
| CV (%) | 7,66 | 28,32 | 44,31 | 26,76 | 18,14 | 14,28 | 19,33 | 13,55 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4. Valores dos testes de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LIXK) a 25°C por períodos de embebição (6 horas e 24 horas), após estresse controlado (EC) e após revigoramento de sementes (RS), das sementes inteiras e partes das sementes do genótipo C de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| GENÓTIPO C | CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------------------|----------|------------------------|---------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
| | Normal | LIXK | Normal | LIXK | EC | LIXK | RS | LIXK |
| | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 24h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | |
| $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | | | | | |
| Semente inteira | 13,53 b | 26,00 b | 19,89 c | 44,50 b | 7,74 b | 124,75 a | 4,28 b | 149,50 a |
| Meia semente | 27,02 b | 20,50 b | 41,57 c | 72,75 a | 23,70 b | 24,75 c | 19,89 b | 30,00 b |
| Pericarpo | 160,53 a | 25,00 b | 216,14 b | 22,75 b | 187,10 a | 42,50 bc | 68,76 a | 136,50 a |
| Endosperma | 19,14 b | 117,50 a | 32,72 c | 31,00 b | 19,34 b | 60,50 b | 15,06 b | 17,00 b |
| Embrião | 180,26 a | 18,75 b | 241,62 a | 40,50 b | 172,09 a | 117,50 a | 77,88 a | 21,50 b |
| Teste F | 157,04** | 22,81** | 376,98** | 14,34** | 136,07** | 78,05** | 38,25** | 78,19** |
| DMS (5%) | 28,88 | 38,92 | 24,47 | 21,92 | 33,49 | 22,20 | 23,75 | 32,67 |
| CV (%) | 16,51 | 42,90 | 10,15 | 23,73 | 18,70 | 13,74 | 29,26 | 21,10 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5. Valores dos testes de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LIXK) a 25°C por períodos de embebição (6 horas e 24 horas), após estresse controlado (EC) e após revigoramento de sementes (RS), das sementes inteiras e partes das sementes do genótipo D de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| GENÓTIPO D | CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------------------|----------|------------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|---------|
| | Normal | LIXK | Normal | LIXK | EC | LIXK | RS | LIXK |
| | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 24h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | |
| $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | | | | | |
| Semente inteira | 15,26 c | 49,00 a | 20,44 d | 77,50 ab | 10,43 c | 49,50 bc | 6,11 c | 24,00 b |
| Meia semente | 30,04 c | 45,50 a | 51,70 c | 113,00 a | 36,77 c | 97,00 a | 24,42 b | 55,00 a |
| Pericarpo | 131,44 b | 13,00 b | 259,43 b | 32,00 c | 207,37 b | 26,00 c | 70,64 a | 16,50 b |
| Endosperma | 21,34 c | 28,50 ab | 39,01 cd | 67,50 bc | 21,40 c | 28,50 c | 18,68 b | 20,00 b |
| Embrião | 182,00 a | 28,00 ab | 340,87 a | 79,00 ab | 253,21 a | 55,50 b | 76,36 a | 29,00 b |
| Teste F | 136,41** | 6,91** | 461,35** | 10,28** | 294,87** | 24,36** | 174,22** | 14,26** |
| DMS (5%) | 28,41 | 24,33 | 29,96 | 39,51 | 29,28 | 25,30 | 10,60 | 17,71 |
| CV (%) | 17,12 | 33,97 | 9,64 | 24,52 | 12,67 | 22,58 | 12,37 | 28,07 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6. Valores dos testes de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LIXK) a 25°C por períodos de embebição (6 horas e 24 horas), após estresse controlado (EC) e após revigoramento de sementes (RS), das sementes inteiras e partes das sementes do genótipo E de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| GENÓTIPO E | CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | | | |
|-----------------|-------------------------------------|---------|------------------------|-----------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
| | Normal | LIXK | Normal | LIXK | EC | LIXK | RS | LIXK |
| | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 24h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | | 25°C 6h ⁻¹ | |
| | $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | | | | |
| Semente inteira | 15,88 d | 54,50 a | 26,53 c | 133,00 ab | 11,79 d | 64,50 bc | 7,58 d | 39,00 bc |
| Meia semente | 44,86 c | 48,50 a | 64,19 c | 174,50 a | 123,56 b | 124,00 a | 34,63 b | 118,00 a |
| Pericarpo | 229,59 b | 15,00 b | 257,87 b | 23,50 d | 184,68 c | 20,00 d | 95,44 a | 17,00 c |
| Endosperma | 30,77 cd | 19,00 b | 41,88 c | 84,50 c | 30,83 d | 56,00 c | 24,72 c | 37,50 bc |
| Embrião | 280,76 a | 54,50 a | 321,71 a | 122,00 bc | 250,34 b | 77,50 b | 96,19 a | 47,00 b |
| Teste F | 1028,38** | 20,81** | 103,32** | 28,78** | 638,54** | 95,40** | 1031,72** | 45,32** |
| DMS (5%) | 17,00 | 18,81 | 58,88 | 46,29 | 17,46 | 16,86 | 5,63 | 25,09 |
| CV (%) | 6,47 | 22,49 | 18,93 | 19,72 | 6,65 | 11,29 | 4,99 | 22,23 |

[†] Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Após a medição da CE das sementes inteiras e das partes seccionadas, verificaram-se maiores valores de quantidade de lixiviados quando empregado o período de embebição de 24 h em relação ao período de embebição de 6 h, porém com diferenças pouco acentuadas. As diferenças moderadas de valores verificadas entre os períodos de embebição concordam com os trabalhos realizados pelos autores Labouriau (1983), Bewley e Black (1994) e Bradford (1994), que explicam o processo de embebição em sementes ser caracterizado, inicialmente, por rápida absorção de água, seguido de redução acentuada na velocidade de hidratação. Assim, no início da hidratação das sementes a taxa de liberação de eletrólitos é elevada declinando à medida que ocorre a reorganização das membranas celulares.

Conforme estabelecido pelo ISTA (2011), embora a recomendação para a maioria das espécies de sementes, seja de 24 h, os autores Menezes et al. (2007) e Carvalho et al. (2009) verificaram a possibilidade de redução do período de embebição para 8 h e 2 h na avaliação do CE em aveia preta e soja.

Os autores Dias e Marcos-Filho (1996) concluíram que a redução no período de embebição de sementes de soja para 4 e 8 horas permitiu a

identificação de diferenças de vigor mais acentuadas entre os lotes. Ainda, Vidal (2010) verificou através do CE, que utilizando apenas os embriões de sementes de milho, foi possível separar os lotes de sementes em função do nível de vigor a partir de 30 minutos até 8 horas. Sendo assim, os resultados obtidos pelos autores corroboram com os resultados dos genótipos avaliados no período reduzido de embebição utilizado de 6 h. Principalmente em relação às partes de sementes, no qual foi possível verificar as diferenças de vigor entre os genótipos, caracterizadas pelas médias desagrupadas (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Nas sementes inteiras, independente do período de embebição utilizado, constatou-se que o genótipo E apresentou a maior quantidade de lixiviados, enquanto que o genótipo B apresentou a menor quantidade de lixiviados. Os genótipos A, D e C apresentaram quantidades de lixiviados intermediárias. Considerando os resultados em sementes inteiras, o genótipo B apresentou maior qualidade fisiológica e o genótipo E de menor qualidade fisiológica (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Nas partes de sementes, para todos os genótipos, e em ambos os períodos de embebição, observou-se que as partes que obtiveram a maior perda de lixiviados foram o embrião, seguido do pericarpo. Enquanto que as partes que obtiveram a menor perda de lixiviados foram o endosperma, seguido da meia semente (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Os resultados obtidos do CE em embriões de sementes de milho indicaram aumento progressivo da lixiviação de eletrólitos entre os períodos de embebição, correspondendo de 11 a 24 vezes os valores de lixiviados das sementes inteiras, tendo o genótipo A apresentado os maiores valores de lixiviados, os genótipos E, B e D valores intermediários e o genótipo C os menores valores para os períodos de embebição aplicados. A elevada quantidade de lixiviados na solução de embebição de embrião de sementes também foi verificada pelos autores Villela et al. (2003), Paes (2006) e Vidal (2010), que em decorrência de o embrião ser a parte viva da semente de milho, representando em média 11% da semente, este absorve água com maior velocidade do que as demais estruturas das sementes. Conseqüentemente, pela absorção de água, ocorre aumento da atividade metabólica nas células meristemáticas, alongamento e divisão celular (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Vidal (2010) também considerou que as remoções do endosperma e do pericarpo poderiam contribuir com o acréscimo de lixiviação de eletrólitos durante a embebição de embriões de sementes. Entretanto, é importante ressaltar que neste trabalho o dano da extração das partes de sementes foi proporcional para todas as estruturas avaliadas.

Os resultados obtidos do CE em pericarpo de sementes de milho indicaram diferenças entre os períodos de embebição de 6 h e 24 h. No período de 6 h, os valores de lixiviados do maior para o menor foram correspondentes aos genótipos E e D e no período de embebição de 24 h, os valores de lixiviados do maior para o menor foram correspondentes aos genótipos A e B. Os resultados obtidos em pericarpo de sementes para os genótipos A e E estão de acordo com os resultados do CE verificados em sementes inteiras e em embriões de sementes, tendo em vista que também apresentaram menor qualidade fisiológica.

As variações dos resultados de lixiviados no pericarpo podem ser devido às diferenças estruturais do pericarpo da semente, que apresenta características intrínsecas ao genótipo, como diferentes permeabilidade e espessura, que poderiam influenciar nas quantidades de lixiviados. A quantidade de lixiviados observada também pode ter sido influenciada pela extensão do pericarpo, que representa em média 7% da semente (McDONALD et al., 1994; PAES, 2006; VIDAL, 2010; ZUCARELI et al., 2011;).

Ainda, McDonald et al. (1994) consideraram que a embebição ocorre através da rápida entrada de água levando à hidratação do embrião e através de movimento de uma frente úmida que penetra no pericarpo avançando lentamente, através do endosperma. Tais considerações fundamentam o pericarpo ter sido a parte que obteve, depois do embrião, a maior perda de lixiviados devido a maior exposição e rompimento das células.

Em relação à perda de lixiviados do endosperma de sementes de milho os resultados do CE indicaram, dentre as partes extraídas, os menores valores de lixiviados na solução de embebição. Segundo os autores Sousa et al. (2012), o endosperma de milho é composto basicamente por amido e proteínas de reserva. Apesar de ser tecido reserva da semente, verificaram-se nesse trabalho diferenças significativas de lixiviados entre os genótipos nos períodos de embebição, sendo o genótipo A com maiores valores de lixiviados, os

genótipos B, D e E com valores intermediários e o genótipo C com menores valores de lixiviados. Reiterando os resultados do CE verificados nas Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6 para as partes embrião e pericarpo (24 h). Tais resultados observados do CE em endosperma de sementes foram discordantes dos autores Bruggink et al. (1991), que em estudos do EA, utilizando CE, concluíram que as membranas do endosperma não apresentaram resposta significativa ao EA, por ser composto de células não vivas. Em contrapartida, os autores Matthews e Powell (1987) referiram-se ao processo de perda de lixiviados, seja do embrião ou da semente, como de difusão física e ocorre tanto em tecido vivo como tecido não vivo.

No CE para as sementes seccionadas ao meio, constatou-se que as quantidades de lixiviados foram superiores às sementes inteiras e inferiores às partes das sementes, com exceção do endosperma, dos diferentes genótipos e nos períodos de embebição utilizados. Sendo verificados resultados satisfatórios, separando com clareza o genótipo C de maior vigor do genótipo A de menor vigor, e correlacionados com os resultados observados para o embrião, pericarpo (24 h) e endosperma (Tabelas 2 e 4).

Dessa forma, os resultados encontrados em CE apresentaram diferentes quantidades de lixiviados nos períodos de embebição utilizados. Foi possível verificar as diferenças de vigor entre as sementes inteiras e partes das sementes, principalmente nas partes embrião e meia semente, em que se observaram resultados mais claros e eficientes do que o método convencional com sementes inteiras. Apesar da efetividade na avaliação dessas partes, a metodologia de extração do embrião foi mais morosa, enquanto que a obtenção das meias sementes foi realizada com maior facilidade e rapidez, sendo a mais indicada.

Após submeter às sementes dos diferentes genótipos ao EC foi verificado que houve alterações de quantidades de lixiviados entre as sementes inteiras e as partes de sementes em relação às não submetidas ao EC (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Nas sementes inteiras foi verificado que tanto nos períodos de embebição do CE sem estresse como em EC, que os genótipos E e B apresentaram a maior e a menor quantidade de lixiviados, respectivamente. Na parte das sementes embrião e endosperma houve correlação dos resultados

entre os períodos de embebição do CE sem estresse e EC, apenas para o genótipo C, apresentando a menor quantidade de lixiviados. No pericarpo das sementes houve correlação dos resultados nos períodos de embebição do CE sem estresse e EC, apenas do genótipo A, apresentando a maior quantidade de lixiviados. Nas sementes ao meio foi verificado que para os períodos de embebição do CE sem estresse e EC, que o genótipo A obteve a maior quantidade de lixiviados e o genótipo C a menor quantidade de lixiviados.

De forma geral, comparando os períodos de embebição do CE sem estresse e EC, foram obtidos resultados equivalentes de diferenciação dos genótipos nas sementes inteiras e na parte de sementes de milho seccionadas ao meio, porém com valores mais altos após EC. É importante ressaltar que tais resultados verificados atingiram o objetivo proposto de causar estresse nas sementes, e conseqüentemente redução de vigor para avaliação da reação ao RS.

A utilização do RS após EC apresentou redução significativa de lixiviados na avaliação do CE pelas sementes inteiras e partes das sementes, em todos os genótipos (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6). As sementes inteiras, sementes ao meio, pericarpos, endospermas e embriões reduziram suas quantidades de lixiviados em até 68%, 40%, 62%, 35% e 66%, na devida ordem. Pelo exposto, as sementes inteiras e a parte das sementes embrião foram as que melhor responderam ao RS, reduzindo consideravelmente a quantidade de lixiviados e demonstrando a capacidade do tecido em recuperar os danos do estresse.

Apesar de ocorrido a redução de quantidade de lixiviados após RS, nas sementes inteiras, os genótipos B e E mantiveram-se como os de maior e menor vigor (Tabelas 3 e 6).

Tratando-se do embrião e pericarpo das sementes, verificou-se após RS que o genótipo D e C obtiveram ganhos de qualidade fisiológica, destacando-se como o de maior vigor no pericarpo e no embrião das sementes, respectivamente, e o genótipo A permaneceu como o de menor vigor (Tabelas 2, 4 e 5).

Em relação ao endosperma das sementes verificou-se após RS, que o genótipo E apresentou qualidade fisiológica inferior, assim como observado em EC, e o genótipo C, manteve-se como superior em nível de vigor e em

conformidade com os resultados obtidos nos períodos de embebição do CE sem estresse e em EC. (Tabelas 4 e 6).

Nas sementes ao meio após RS, o genótipo C manteve-se como de maior vigor. Verificaram-se os genótipos A, B e D como de vigor intermediário e o genótipo E se destacou como de menor vigor. Esses resultados indicaram que possivelmente as partes de sementes ao meio do genótipo A responderam ao RS, tendo em vista que, nos tratamentos realizados anteriormente nos períodos de embebição do CE sem estresse e em EC o genótipo A apresentou o menor vigor (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Tais resultados corroboram com diversos estudos realizados pelos autores Knypl et al. (1980), Knypl e Khan (1981), Woodstock e Tao (1981), Woodstock e Taylorson (1981) e Tilden e West (1985) sobre os efeitos do pré-condicionamento de sementes de soja, em que através da embebição lenta há possibilidade do aparecimento de acréscimos na qualidade fisiológica das sementes, tanto pela restauração das membranas como, possivelmente, por uma reorganização metabólica a nível celular.

Nas Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 foram apresentados os resultados do CE comparativos das sementes inteiras e das partes das sementes entre os tratamentos de EC e RS após EC dos genótipos A, B, C, D e E. Através das análises estatísticas os resultados apresentaram valores de F significativos e reiterou-se que a utilização da metodologia do RS contribuiu com o aumento de vigor tanto nas sementes inteiras, como nas partes das sementes, reduzindo consideravelmente os valores dos lixiviados pela utilização de RS. Tais considerações coincidem com o conjunto de resultados obtidos de RS nas Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6 pela verificação do CE.

Tabela 7. Valores do teste de condutividade elétrica (CE) a 25°C por período de embebição de 6 horas, após estresse controlado (EC) e após revigoração das sementes (RS), das sementes inteiras dos genótipos A, B, C, D e E de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| SEMENTE INTEIRA | GENÓTIPO | | | | |
| | A | B | C | D | E |
| | $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | |
| Estresse 25°C 6h ⁻¹ | 10,46 a | 7,23 a | 7,74 a | 10,43 a | 11,79 a |
| Revigoração 25°C 6h ⁻¹ | 6,00 b | 4,00 b | 4,28 b | 6,11 b | 7,58 b |
| Teste F | 84,17** | 386,79** | 140,54** | 482,88** | 110,96** |
| DMS (5%) | 1,19 | 0,40 | 0,72 | 0,48 | 0,98 |
| CV (%) | 8,35 | 4,14 | 6,87 | 3,36 | 5,83 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8. Valores do teste de condutividade elétrica (CE) a 25°C por período de embebição de 6 horas, após estresse controlado (EC) e após revigoração das sementes (RS), das sementes ao meio dos genótipos A, B, C, D e E de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|----------|---------|----------|----------|
| MEIA SEMENTE | GENÓTIPO | | | | |
| | A | B | C | D | E |
| | $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | |
| Estresse 25°C 6h ⁻¹ | 41,35 a | 35,34 a | 23,70 a | 36,77 a | 123,56 a |
| Revigoração 25°C 6h ⁻¹ | 27,25 b | 22,18 b | 19,89 b | 24,42 b | 34,63 b |
| Teste F | 60,94** | 288,61** | 14,93** | 216,17** | 497,46** |
| DMS (5%) | 4,42 | 1,90 | 2,41 | 2,10 | 9,76 |
| CV (%) | 7,45 | 3,81 | 6,40 | 3,88 | 7,13 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 9. Valores do teste de condutividade elétrica (CE) a 25°C por período de embebição de 6 horas, após estresse controlado (EC) e após revigoração das sementes (RS), de partes de pericarpo das sementes dos genótipos A, B, C, D e E de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| PERICARPO | GENÓTIPO | | | | |
| | A | B | C | D | E |
| | $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | |
| Estresse 25°C 6h ⁻¹ | 253,43 a | 212,70 a | 187,10 a | 207,37 a | 184,68 a |
| Revigoração 25°C 6h ⁻¹ | 98,14 b | 71,36 b | 68,76 b | 70,64 b | 95,44 b |
| Teste F | 48,78** | 34,32** | 53,44** | 135,47** | 454,69** |
| DMS (5%) | 54,41 | 59,04 | 39,61 | 28,74 | 10,24 |
| CV (%) | 17,89 | 24,03 | 17,89 | 11,95 | 4,23 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 10. Valores do teste de condutividade elétrica (CE) a 25°C por período de embebição de 6 horas, após estresse controlado (EC) e após revigoração das sementes (RS), de partes de endosperma das sementes dos genótipos A, B, C, D e E de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|----------|---------|---------|---------|
| ENDOSPERMA | GENÓTIPO | | | | |
| | A | B | C | D | E |
| | $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | |
| Estresse 25°C 6h ⁻¹ | 29,91 a | 29,97 a | 19,34 a | 21,40 a | 30,83 a |
| Revigoração 25°C 6h ⁻¹ | 23,34 b | 20,55 b | 15,06 b | 18,68 b | 24,72 b |
| Teste F | 19,72** | 124,39** | 6,39* | 12,54* | 16,31** |
| DMS (5%) | 3,62 | 2,10 | 4,14 | 1,88 | 3,71 |
| CV (%) | 7,86 | 4,73 | 13,92 | 5,43 | 7,71 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 11. Valores do teste de condutividade elétrica (CE) a 25°C por período de embebição de 6 horas, após estresse controlado (EC) e após revigoramento das sementes (RS), de partes de embrião das sementes dos genótipos A, B, C, D e E de híbrido de milho, dados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

| CONDUTIVIDADE ELÉTRICA | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| EMBRIÃO | GENÓTIPO | | | | |
| | A | B | C | D | E |
| | $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ | | | | |
| Estresse 25°C 6h ⁻¹ | 362,14 a | 364,97 a | 172,09 a | 253,21 a | 250,34 a |
| Revigoramento 25°C 6h ⁻¹ | 138,26 b | 91,16 b | 77,88 b | 76,36 b | 96,19 b |
| Teste F | 96,49** | 387,46** | 50,45** | 272,16** | 453,45** |
| DMS (5%) | 55,77 | 34,04 | 32,45 | 26,23 | 17,71 |
| CV (%) | 12,88 | 8,63 | 15,01 | 9,20 | 5,91 |

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

^{NS} Valor não significativo pelo teste F e **valor significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Cabe destacar que avaliadas as médias entre RS após EC, o embrião das sementes obteve os melhores resultados, apresentando a maior redução de lixiviados, seguido do pericarpo das sementes, das sementes inteiras, meias sementes e endosperma das sementes em todos os genótipos.

Os resultados deste trabalho concordam com os obtidos pelos autores Liu et al. (1997) e Garcia et al. (1995) que em estudos do RS, conhecido por *priming*, mostrou induzir a síntese de DNA nuclear em células de várias espécies de plantas, incluindo do milho, tendo o revigoramento mostrado ativar processos relacionados ao ciclo celular. Ainda Pallaoro et al. (2016) concluiu que o condicionamento em rolo de papel Germitest[®] eleva a qualidade das sementes de milho. Fato igualmente observado neste trabalho com o revigoramento das sementes.

Em relação à quantificação de LIXK das soluções de embebição das sementes inteiras e partes das sementes dos genótipos após período do CE (24 h), EC e RS verificou-se que os resultados apresentaram diferença estatística. Com ressalvas para os genótipos A e B após período do CE (6 h), em que não houve valores significativos de F entre sementes inteiras e partes das sementes (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Nas sementes inteiras, os resultados encontrados de LIXK tiveram correlação com os resultados dos períodos de embebição do CE, em que os genótipos E e A apresentaram maior presença de lixiviados/potássio na

solução de embebição e os genótipos C e B apresentaram menor quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição. Após EC e avaliação de LIXK nas sementes inteiras, houve correlação entre os resultados de EC e LIXK apenas para os genótipos B e D, apresentando a menor e intermediária quantidade de lixiviados/potássio, respectivamente. Os resultados após RS e medição de LIXK, em sementes inteiras, foram correspondentes para os genótipos B e A, pois em ambas as avaliações apresentaram a menor e intermediária quantidade de lixiviados/potássio, respectivamente (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Em relação ao embrião, o LIXK indicou resultados equivalentes aos dos períodos de embebição do CE, tendo o genótipo A com a maior quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição e o genótipo C com a menor quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição. Bem como, os resultados de LIXK foram equivalentes aos de EC para os genótipos B e A, pois apresentaram a maior presença de lixiviados/potássio na solução de embebição do embrião das sementes. Ainda, para o embrião das sementes após RS e LIXK houve semelhança de resultados, ambos apresentaram o genótipo A com a maior quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição e os genótipos C e D com a menor quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Referente ao pericarpo, os resultados no período de embebição CE (6 h) e em LIXK foram correspondentes somente para o genótipo D, apresentando a menor quantidade de lixiviados/potássio. Não houve resultados semelhantes entre o período de embebição CE (24 h) e LIXK. Os resultados obtidos para o pericarpo das sementes em EC e LIXK foram semelhantes, tendo em vista que, o genótipo A apresentou a maior quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição e o genótipo E a menor quantidade de lixiviados/potássio na solução de embebição. Houve correlação dos resultados entre LIXK e RS somente para o genótipo B, em ambos apresentando quantidade intermediária de lixiviados/potássio (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Em relação ao endosperma das sementes, o LIXK e o período de embebição CE (6 h) foram equivalentes para os genótipos B e D, com quantidades intermediárias de lixiviados/potássio. O LIXK e o período de embebição CE (24 h) apresentaram resultados correspondentes para os

genótipos A e C, com as maiores e as menores quantidades de lixiviados/potássio, respectivamente. Entre EC e LIXK não houve resultados semelhantes para o endosperma das sementes dos genótipos. Referente ao RS e LIXK em endosperma das sementes, os resultados foram semelhantes para os genótipos A e D, com quantidades intermediárias de lixiviados/potássio, e para o genótipo C com menor quantidade de lixiviados/potássio (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

Para sementes seccionadas ao meio, em relação aos períodos de embebição do CE e LIXK, foi verificado que o genótipo A apresentou a maior quantidade de lixiviados/potássio e o genótipo C apresentou a menor quantidade de lixiviados/potássio (Tabelas 2 e 4). Na avaliação de EC e LIXK também foram obtidos resultados correspondentes em sementes seccionadas ao meio, onde os genótipos A e E apresentaram maior quantidade de lixiviados/potássio e o genótipo C a menor quantidade de lixiviados/potássio. Assim como, RS e LIXK apresentaram semelhanças nos resultados, sendo o genótipo A e E com a maior quantidade de lixiviados/potássio e o genótipo C com a menor quantidade de lixiviados/potássio.

A utilização de LIXK detectou resultados satisfatórios e correspondentes aos resultados do CE (24 h), EC e RS nas partes das sementes embrião e meia semente. Dessa forma, o genótipo C foi identificado como o de maior vigor, com os menores resultados de lixiviados/potássio na solução de embebição e o genótipo A foi identificado como o de menor vigor, com maiores resultados de lixiviados/potássio na solução de embebição.

Os autores Dias et. al (1995) avaliando a utilização de LIXK em sementes de soja, relataram resultados consistentes nos períodos de embebição entre 60 a 150 minutos, entretanto, verificaram que após 150 minutos, acréscimos significativos na concentração de potássio dificultaram a realização das leituras dos lixiviados.

Considerando o conjunto de resultados obtidos de LIXK constatou-se que o teste conseguiu captar as diferenças de lixiviação dos tecidos das sementes, principalmente nas partes das sementes embrião e meia semente, dos diferentes genótipos. Esses resultados também foram verificados nos trabalhos desenvolvidos pelos autores Simon e Raja-Harun (1972), Pandey (1989), Doni-Filho (1992), Prete (1992), Dias (1994), Custódio e Marcos-Filho (1997) em que

ao relacionar resultados de LIXK e de CE, encontraram diferenças de qualidade fisiológica em lotes de sementes de café, feijão e soja, notando-se a importância da utilização conjunta dos resultados obtidos em LIXK e CE. Por outro lado, o uso LIXK para avaliação de vigor em sementes de milho é recente e metodologias vêm sendo estudadas pelos pesquisadores, ainda requer continuidade de refinamento da metodologia para milho.

5.1. Considerações finais

O isolamento das partes das sementes com estilete cirúrgico requer atenção durante a extração. As partes a serem seccionadas devem ser retiradas cuidadosamente de maneira que não ocorram danos excessivos nos tecidos pelo processo de corte nas mesmas.

Foi observado que a utilização das partes das sementes de milho, principalmente do embrião e da meia semente, imersas por 6 horas no teste de condutividade elétrica, permite a estratificação dos genótipos em diferentes níveis de vigor. Sendo, portanto, uma avaliação mais rápida do que a convencional com sementes inteiras.

Apesar do tempo reduzido para avaliação das partes das sementes embrião e da meia semente, a metodologia de extração do embrião foi morosa, enquanto que das meias sementes foi realizada com facilidade e rapidez, sendo a mais indicada, e mostrando ser uma metodologia promissora para avaliar o vigor de sementes de milho.

A utilização das partes das sementes, principalmente do embrião e da meia semente, no teste de lixiviação de potássio permite a estratificação dos genótipos em diferentes níveis de vigor, mas requer continuidade de refinamento da metodologia para milho.

6. CONCLUSÃO

1. As partes de sementes de milho apresentam diferentes quantidades de lixiviados no teste de condutividade elétrica e na lixiviação de potássio;
2. O embrião é a parte de semente que mais influencia nos lixiviados das sementes de milho, seguida do pericarpo, meia semente e endosperma;

3. O revigoramento das sementes contribuiu com a recuperação da qualidade fisiológica em sementes inteiras e em partes das sementes de milho, após estresse controlado.

7. REFERÊNCIAS

ABREU, L.A.S.; CARVALHO, M.L.M.; PINTO, C.A.G.; KATAOKA, V.Y. Teste de condutividade elétrica na avaliação de sementes de girassol armazenadas sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.635-642, 2011.

ALVES, E.; CAVARIANI, C.; CORRÊA, M.R.; SOUZA, F.L.G.; CORRÊA, T.M.; NAKAGAWA, J. Efeito dos períodos de envelhecimento na lixiviação de íons e de proteínas solúveis em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.119-125, 2004.

AOSA - ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigour handbook**. East Lansing, 1983. 93p. (Contribution, 32).

BALBINOT, E.; LOPES, H.M. Efeitos do condicionamento fisiológico e da secagem na germinação e no vigor de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.1, p.01-08, 2006.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.

BARBOSA, J.C.; MALDONADO-JUNIOR, W. **Experimentação agrônômica & AgroEstat**: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: Gráfica Multipress, 2015. 396p.

BARBOSA-NETO, J.B.; TERRA, T.F.; WIETHOLTER, P.; BISPO, N.B.; SERENO, M.J.C.M. Milho. In: BARBIERI, R.L.; STUMPF, E.R.T. (Eds.). **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p.577-598.

BARROS, M.A.; OHSE, S.; MARCOS-FILHO, J. Ion leakage as an indicator of vigor in field bean seeds. **Seed Technology**, v.21, p.44-48, 1999.

BEWLEY, J.D. Membrane changes in seeds as related to germination and perturbations resulting from deterioration in storage. In: McDONALD JR.; NELSON, C.J. (Ed.). **Physiology of seed deterioration**. Madison: Crop Science Society of America, 1986. p.27-46.

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

BILIA, D.A. et al. Comportamento de sementes de milho híbrido durante o armazenamento sob condições variáveis de temperatura e umidade relativa do ar. **Scientia Agricola**, v.51, n.1, p.153-157, 1994.

BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Temperatura e período de exposição de sementes de milho no teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.161-168, 2006.

BRADFORD, K.J. Water stress and the water relations of seed development: a critical review. **Crop Science**, v.34, p.1-11, 1994.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 25, de 16 de dezembro de 2005**. Estabelece normas específicas e os padrões de identidade e qualidade para produção e comercialização de sementes de algodão, arroz, aveia, avevém, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo, trevo vermelho, trigo, trigo duro, triticale e feijão caupi, constantes dos Anexos I a XIV. Brasília: MAPA, 2005. (DOU: 20 dez. 2005, Seção 1, p.18-26).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

BRUGGINK H.; KRAAK H.L.; DIJEMA M.H.G.E.; BEKENDAM J. Some factors influencing electrolyte leakage from maize (*Zea mays* L.) kernels. **Seed Science and Research**, v.1, p.15-20, 1991.

CARVALHO, L.F. SEDIYAMA, C.S.; REIS, M.S.; DIAS, D.C.F.S.; MOREIRA, M.A. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.9-17, 2009.

CARVALHO, L.F. SEDIYAMA, C.S.; REIS, M.S.; DIAS, D.C.F.S.; MOREIRA, M.A. Teste rápido de condutividade elétrica e correlação com outros testes de vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.239-248, 2009.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. (Eds.). **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590 p.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira 2017/2018 de grãos: décimo levantamento de julho de 2018**. Brasília: CONAB, 2018. 178p.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. **Resumo Geral de Plantas Geneticamente modificadas aprovadas para Comercialização**, Última Atualização: 04/05/2018.

CUSTÓDIO, C.C.; MARCOS-FILHO, J. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, v.25, p. 549-564, 1997.

DIAS, D.C.F. **Testes de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1994. 136f. Dissertação (Doutorado) - ESALQ/USP Piracicaba.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS-FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* L.). **Scientia Agricola**, v.53, n.1, p.31-42, 1996.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS-FILHO, J.; CARMELO, Q.A.C. Teste de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de soja [*Glycine max* (L.) MERRILL]. **Scientia Agricola**, v.53, n.3, p.444-451, 1995.

DONI-FILHO, L. **Efeitos do condicionamento fisiológico no comportamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1992. 108f. Dissertação (Doutorado) - ESALQ/USP, Piracicaba, 1992.

DUARTE, J.O.; MATTOSO, M.J.; GARCIA, J.C. **Milho**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONTAG01_8_168200511157.html#>. Acesso em: 13 Jun. 2018.

FAGIOLI, M. **Lixiviação de eletrólitos e condutividade elétrica da solução de embebição de sementes de milho**. 2001. 64f. Dissertação (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2001.

FAGIOLI, M. **Relação entre a condutividade elétrica de sementes e a emergência das plântulas de milho em campo**. 1997. 74f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 1997.

FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C.; LUIZ E MONIZ, E.A.; OLIVEIRA, A.L.F. Avaliação da maturação de grãos de milho através da linha do leite para aplicação de dessecantes químicos. **Bragantia**, v.53, n.2, p.209-218, 1994.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Crop prospects and food situation**: december 2017, Quarterly Global Report, 2017.

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

FESSEL, S.A.; SILVA, L.J.R.; GALLI, J.A.; SADER, R. Uso de solução salina (NaCl) no teste de envelhecimento acelerado em sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). **Científica**, v.33, n.1, p.27-34, 2005.

FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPS, 1984. 39p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 9).

GARCIA, F.C., JIMENEZ, L.F., VEZQUEZ, R.J.M. Biochemical and cytological studies on osmoprimed maize seeds. **Seed Science**, v.5, n.1, p.15-23, 1995.

GARCIA, J.C.; MATTOSO, M.J.; DUARTE, J.O. Importância do milho em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, v.27, n.233, p.712, 2006.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1995.117p.

HEGARTY, T.W. The Physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review. **Plant, Cell and Environment**, v.1, n.2, p.101-119, 1978.

HERTER, U.; BURRIS, J.S. Evaluating drying injury on corn seed with a conductivity test. **Seed Science and Technology**, v.17, n.1, p.625-638, 1989.

HEYDECKER, W. Vigour. In: Viability of seeds. **Springer Netherlands**, p.209-252, 1972.

ISTA - International Seed Testing Association. **Handbook of vigour test methods**. 3.ed. Zürich: ISTA, 1995. 116p.

ISTA - International Seed Testing Association. **International Rules for Seed Testing**. Basesdorf: ISTA, 2011. 142p.

KNYPL, J.S.; JANAS, K.M.; RADZIWONOWSKA-JOZWIAK, A. Is enhanced vigour in soybean (*Glycine max*) dependent on activation of protein turnover during controlled hydration of seeds? **Physiologie Vegetale**, v.18, n.1, p.157-161, 1980.

KNYPL, J.S.; KHAN, A.A. Osmoconditioning of soybean seeds to improve performance at suboptimal temperatures. **Agronomy Journal**, v.73, p.112-116, 1981.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 174p.

LIU, Q., HILHORST, H.W.M., GROOT, S.P.C., BINO, R.J. Amounts of nuclear DNA and internal morphology of gibberellin- and abscisic acid-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds during maturation, imbibition and germination. **Annals of Botany**, v.79, n.2, p.161-168, 1997.

LOEFFLER T.M., TEKRONY D.M.; EGLI D.B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, v.12, n.1, p.37-53, 1988.

MARCOS-FILHO, J. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, v.11, n.3, p.63-75, 2001.

MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-21.

MARCOS-FILHO, J. Relações entre germinação, vigor e permeabilidade das membranas celulares durante a maturação de sementes de soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília. **Anais**. Londrina: EMBRAPA - CNPSo, 1982, v.2, p.256.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v.72, n.4, p.363-374, 2015.

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

MATTHEWS, S.; POWEL, A.A. Controlled deterioration test. In: PERRY, D.A. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1987. p.49-56.

McDONALD, M. B. JR.; SULLIVAN, J.; LAUER, M. J. The pathway of water uptake in maize seeds. **Seed Science and Technology**, v.22, p.79-90, 1994.

MENEZES, N.L.; GARCIA, D.C.; BAHRY, C.A.; MATTIONI, N.M. Teste de condutividade elétrica em sementes de aveia preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.138-142, 2007.

MIGUEL, M.C.; MARCOS-FILHO, J. Potassium leakage and maize seed physiological potential. **Scientia Agricola**, v.59, n.2, p.315-319, 2002.

NAWAZ, J.; HUSSAIN, M.; JABBAR, A.; NADEEM, G.; SAJID, M.; SUBTAIN, M.; SHABBIR, I. Seed Priming A Technique. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**. v.6, n.20, p.1373-1381, 2013.

OLIVEIRA-JUNIOR, G.I.; MORAES, V.B.; COSTA, N.M.B.; PAES, M.C.D. Importância nutricional do milho. In: **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo/CNPMS, 2008. p.107-124.

PAES, M.C.D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **Embrapa Milho e Sorgo/CNPMS**, Sete Lagoas, 2006. p.6 (Circular Técnica, 75)

PALLAORO, D.S. **Condicionamento fisiológico na qualidade de sementes de milho**. 2016. 68f. Dissertação (Mestrado) - UFMT, Cuiabá, 2016.

PANDEY, D.K. Ageing of French bean seeds at ambient temperature in relation to vigour and viability. **Seed Science and Technology**, v.17, n.1, p.41-47, 1989.

PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. Evaluation of the physiological potential of tomato seeds by germination and vigor tests. **Seed Technology**, v.23, p.149-159, 2001.

PESKE, S.; LEVIEN, A. Demanda de Sementes. In: ABRASEM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. (Ed.). **Anuário 2005**. Tudo começa pelas sementes. Pelotas: ABRASEM, 2005. p.10-17.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. p.289.

PRETE, C.E.C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125f. Dissertação (Doutorado) - ESALQ/USP, Piracicaba, 1992.

SILVA, V.N.; ZAMBIASI, C.A.; TILLMANN, M.A.A.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A. Condução do teste de condutividade elétrica utilizando partes de sementes de feijão. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.2, p.206-213, 2014.

SIMON, E.W.; RAJA HARUM, R.M. Leakage during seed imbibition. **Journal of Experimental Botany**, v.23, n.77, p.1076-1085, 1972.

SOUSA, S.M.; PAES, M.C.; TEIXEIRA, F.F. Milho doce: origem de mutações naturais. **Embrapa Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, 13, novembro, 2012. 41p.

TILDEN, R.L.; WEST, S.H. Reversal of the effects of aging in soybean seeds. **Plant Physiology**, v.77, p.584-586, 1985.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Lixiviação de potássio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.2, p.7-12, 2003.

VIDAL, M.D. **Condutividade elétrica massal e individual para determinação do potencial fisiológico de sementes de milho**. 2010. 83f. Dissertação (Doutorado) - UFSM, Santa Maria, 2010.

VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Eds.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal. FUNEP, 1994, p.103-132.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, p.1-26.

VILLELA, F.A.; MARCOS-FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.L.C. Estado energético da água na semente de milho no processo de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.95-100, 2003.

VON PINHO, E.V.R.; VON PINHO R.G.; CICERO, S.M. Consequências da autofecundação indesejável em campos de produção sobre a qualidade fisiológica de sementes híbridas de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, n.2, p.251-255, 1996.

WATERS JR.; BLANCHETTE, B.L. Prediction of sweet corn field emergence by conductivity and cold tests. **Journal American Society for Horticultural Science**, v.108, n.5, p.778 81, 1983.

WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. **Seed Science and Technology**, v.1, n.1, p.127-157, 1973.

WOODSTOCK, L.W.; FURMAN, K.; LEFFLER, H.R. Relationship between weathering deterioration and germination, respiratory metabolism, and mineral leaching from cotton seeds. **Crop Science**, v.25, p.459-466, 1985.

WOODSTOCK, L.W.; TAO, K.L.J. Prevention of imbibitional injury in low vigor soybean embryonic axes by osmotic control of water uptake. **Physiologia Plantarum**, v.51, p.133-139, 1981.

WOODSTOCK, L.W.; TAYLORSON, R.B. Soaking injury and its reversal with polyethylene glycol in relation to respiratory metabolism in high and low vigor soybean seeds. **Physiologia Plantarum**, v.53, p.263-268, 1981.

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