

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE FISIOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO DO
PONTO DE COLHEITA DE SEMENTES DE
CULTIVARES CRIOULAS DE MILHO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Gisele Noal

Santa Maria, RS, Brasil.

2013

**METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
FISIOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO DO PONTO DE COLHEITA
DE SEMENTES DE CULTIVARES CRIOULAS DE MILHO**

Gisele Noal

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Santa Maria/RS (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

Orientador: Profª Drª. Marlove Fátima Brião Muniz

Santa Maria, RS, Brasil.

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Noal, Gisele

Metodologias para avaliação da qualidade fisiológica e identificação do ponto de colheita de sementes de cultivares crioulas de milho / Gisele Noal.-2013.

79 p.; 30cm

Orientadora: Marlove Fátima Brião Muniz

Coorientadora: Liliane Márcia Mertz Henning

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2013

1. Vigor 2. Sanidade 3. Germinação 4. Sementes 5. Maturação I. Muniz, Marlove Fátima Brião II. Henning, Liliane Márcia Mertz III. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado**

**METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA
E IDENTIFICAÇÃO DO PONTO DE COLHEITA DE SEMENTES DE
CULTIVARES CRIOULAS DE MILHO**

elaborada por
Gisele Noal

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

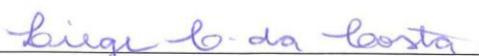
COMISSÃO EXAMINADORA:



Marlove Fátima Brião Muniz, Dr^a.
(Presidente/Orientadora) – UFSM



Liliane Márcia Mertz H., Dr^a
(Co-orientadora) - UFSM



Liege Camargo da Costa, Dr^a
(Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária – FEPAGRO)

Santa Maria, 18 de fevereiro de 2013.

DEDICATÓRIA

**“A minha mãe Ida que em sua luta incansável
conseguiu formar uma enfim Mestre...
Dedico.”**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todo amparo diante de minhas angústias e motivação para seguir sempre em frente.

A minha mãe pela companhia, amparo, amizade, amor, fidelidade... por me auxiliar nos bons e maus momentos, por ser a minha força quando esta me faltou.

A minha irmã Tatiane Noal Abad pelas longas conversas, pelas distrações em momentos oportunos, pela amizade, pelo carinho, por tua presença em minha vida.

Ao meu noivo Marton Luis pelo companheirismo, amor, amizade e incentivo em lutar pelos meus objetivos.

Ao meu pai Alberto pelos ensinamentos e ajuda nos experimentos a campo.

A minha gatinha de estimação Pitu por todo carinho, companhia e amor indiscutivelmente verdadeiro que recebi.

A Professora Marlove, pela oportunidade que me deste, orientação e credibilidade em mim depositada.

A Professora Lia pela ajuda, amizade e ensinamentos que sempre recebi.

A banca examinadora, Dr^a Liege Camargo da Costa e Dr^a Liliane Mertz.

A minha amiga Marta Deprá pelo companheirismo, amizade, bom-humor e ajuda.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia pela amizade e ajuda e aos amigos e funcionários do Departamento de Defesa Fitossanitária, Maria Nevis Weber e Fernando Gnocolo Saccol pelo auxílio e apoio.

À todos aqueles que de uma forma ou outra contribuíram para minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelo conhecimento transferido.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade da realização do mestrado e pela acolhida.

*“... Eu vou ser mais do que eu sou
Para cumprir as promessas que eu fiz
Porque eu sei que é assim
Que os meus sonhos dependem de mim...”*

Marina Elali

RESUMO

Dissertação de mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO DO PONTO DE COLHEITA DE SEMENTES DE CULTIVARES CRIOULAS DE MILHO

AUTORA: GISELE NOAL

ORIENTADORA: MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 18 de fevereiro de 2013.

As cultivares crioulas de milho proporcionam ao agricultor a produção de sementes com alta variabilidade genética, ampla resistência e adaptação, além da vantagem de que próprio agricultor pode selecioná-las e armazená-las para utilização na próxima safra, sem necessidade da compra do insumo. Porém, devido a essa grande variabilidade genética, os testes padronizados para determinação da qualidade fisiológica das sementes necessitam ser adaptados para que possam ser aplicados as cultivares crioulas. Diante disso, esse trabalho tem como objetivo geral avaliar diferentes metodologias de análise da qualidade fisiológica e sanitária e estabelecer o ponto ideal de colheita; para cultivares crioulas de milho. Foram utilizadas sementes produzidas pelos agricultores Guardiões de Sementes Crioulas de Ibarama – RS. Avaliou-se o vigor destas sementes (por meio de diferentes testes) e a qualidade sanitária (por dois métodos de detecção). Além disso, realizou-se o acompanhamento do processo de maturação das sementes em diferentes períodos de colheita. O teste de germinação apresentou variações entre os períodos de avaliação e as diferentes temperaturas testadas, sendo que, na temperatura de 25°C e ao 6º dia de avaliação, obteve-se o maior percentual de germinação, para maioria das cultivares. No teste de frio ocorreu variabilidade de resposta das cultivares quando analisadas em diferentes temperaturas e períodos de exposição. O testes de pH do exsudato não apresentou diferença significativa entre as variações de metodologias testadas. Para as cultivares crioulas o teste de tetrazólio pode ser realizado com menor concentração de sal de tetrazólio (0,07%). Os métodos de avaliação da qualidade sanitária não apresentaram diferenças significativas entre si, porém a metodologia através do “papel filtro” é mais adequada pela facilidade e rapidez de execução. O ponto de colheita, quanto a qualidade fisiológica apresentou melhores resultados, foi no período com 20% a 30% de umidade (última colheita realizada) e a incidência fúngica variou entre os períodos de maturação avaliados.

Palavras-chave: Vigor. Sanidade. Germinação. Sementes. Maturação.

ABSTRACT

Master of Science Dissertation
Graduate Program in Agronomy
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

METHODOLOGIES FOR QUALITY EVALUATION AND IDENTIFICATION OF PHYSIOLOGICAL POINT OF SEEDS OF HARVEST CORN LAND VARIETIES

AUTHOR: GISELE NOAL

ADVISOR: MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

Location and Date of presentation: Santa Maria, 18 de February 2013.

Cultivars of maize landraces provide the farmer seed production with high genetic variability, resistance and wide adaptation, beyond the advantage that the farmer can select them and store them for use next season, without the purchase of inputs. However, due to the high genetic variability, standardized tests to determine the physiological quality of the seeds need to be adapted so that they can be applied to the Land varieties. Therefore, this study aims at evaluating different methodologies for evaluation of physiological and sanitary quality for growing maize landraces. We used seeds produced by farmers Seed Guardians of Creole Ibarama - RS. We evaluated the effect of these seeds (using various tests) and sanitary quality (for both methods of detection). Moreover, there was monitoring the process of seed maturation in different harvest periods. The germination test showed variations between the evaluation periods and different temperatures tested, and that the temperature of 25 ° C and 6 ° day of evaluation, we obtained the highest percentage of germination, for most cultivars. In cold test response variability occurred when the cultivars analyzed at different temperatures and exposure times. The pH of the exudate tests showed no significant difference between the variations tested methodologies. Land varieties for the tetrazolium test can be performed with less concentration of tetrazolium salt (0.07%). The point of harvest, as the physiological quality showed better results in the period was 20 to 30% moisture (held last harvest) and fungal incidence ranged between periods of maturation evaluated.

Keywords: Vigor. Health. Germination. Seed maturation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1– Plântulas normais (%) de cultivares crioulas e híbrida de milho avaliadas em diferentes dias de contagens e temperaturas. Santa Maria – RS, 2012.41
- Figura 2– Absorção de água de sementes das cultivares crioulas e híbrida de milho à temperatura de 25°C e 30°C. 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Pontos de colheita (PC), caracterizados pela porcentagem de umidade e solidificação do endosperma. Adaptada de Hunter et al. (1991).....	35
Tabela 2 - Valores médios (%) de Germinação Total (aos dez dias de contagem) das cultivares crioulas e híbrida de milho em diferentes temperaturas. .	42
Tabela 3 – Plântulas normais (%) de cultivares crioulas e híbrida de milho avaliadas através do Teste de Frio em diferentes Períodos de Exposição e Temperaturas (T).....	44
Tabela 4 - Valores médios (%) de viabilidade de sementes de cultivares crioulas de milho comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho) e em diferentes concentrações avaliadas pelo teste de tetrazólio.	46
Tabela 5 – Valores médios do pH do exsudato de sementes crioulas de milho comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho) e em diferentes períodos de embebição.	48
Tabela 6 – Resultados médios da qualidade sanitária de sementes de cultivares crioulas de milho e cultivar híbrida verificadas através do método papel filtro e meio BDA.....	52
Tabela 7- Emergência de Plântulas (%), Nº dias após Emergência de plântulas (DAE), Índice de velocidade de emergência (IVE) de cultivares crioulas de milho e comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho).	55
Tabela 8 – Coeficientes de correlação simples (r) entre a germinação das cultivares crioulas de milho Amarelão, Bico de Ouro, Brancão e Cinquentinha nas temperaturas 20°C, 25°C e 30°C com a emergência e índice de velocidade de emergência (IVE) em canteiro. Santa Maria – RS, 2012.	56
Tabela 9 – Coeficientes de correlação simples (r) entre a germinação das cultivares crioulas de milho Cunha, Mato Grosso, Sertanejo e a cultivar Híbrida nas temperaturas 20°C, 25°C e 30°C com a emergência e índice de velocidade de emergência (IVE) em canteiro. Santa Maria – RS, 2012.	56
Tabela 10 - Altura Planta aos 15, 20 e 23 dias, Massa fresca e seca de cultivares crioulas de milho comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho).	57
Tabela 11 –Resultados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes da cultivar Amarelão em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – 2012 – RS.	60

Tabela 12 –Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes da cultivar Bico de Ouro em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – 2012 – RS.	60
Tabela 13 –Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes da cultivar Cinquentinha em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – 2012 – RS.	61
Tabela 14 –Incidência de fungos associados a sementes crioulas de milho avaliadas em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – RS, 2012. ..	63

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1- Meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA)	79
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Objetivo geral	17
1.2 Objetivos específicos	17
1.3 Hipótese	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 A cultura do milho.....	19
2.1.1 Sementes crioulas de milho	19
2.1.2 Resgate das cultivares crioulas de milho no município de Ibarama/RS	20
2.2 Legislação de sementes.....	21
2.3 Qualidade de sementes.....	22
2.3.1 Qualidade fisiológica das sementes	22
2.3.1.1 Teste de germinação.....	23
2.3.1.2 Testes de vigor	24
2.3.2 Qualidade sanitária das sementes	25
2.4 Maturação das sementes	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Avaliações em laboratório	28
3.1.1 Teste de germinação.....	28
3.1.2 Testes de vigor	29
3.1.2.1 Teste de frio	29
3.1.2.2 Teste de tetrazólio	29
3.1.2.3 Teste do pH do exsudato individual.....	30
3.1.3 Quantidade de água absorvida pelas sementes	30
3.1.4 Análise Sanitária	31
3.1.4.1 Método Papel Filtro	31
3.1.4.2 Método BDA	32
3.1.5 Delineamento Experimental	32
3.2 Avaliações em campo	32
3.2.1 Emergência de plântulas em canteiro	33
3.2.2 Índice de velocidade de Emergência (IVE).....	33
3.2.3 Altura da planta	34
3.2.4 Massa seca e fresca de parte aérea	34

3.2.5 Avaliação da maturação de sementes.....	34
3.2.5.1 Determinação do grau de umidade	36
3.2.5.2 Teste de germinação.....	36
3.2.5.3 Teste de frio	37
3.2.5.4 Teste de sanidade.....	37
3.2.6 Delineamento experimental.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Testes em laboratório.....	39
4.1.1 Germinação.....	39
4.1.2 Teste de frio	43
4.1.3 Teste de tetrazólio.....	45
4.1.4 Teste pH do exsudato	47
4.1.5 Quantidade de água absorvida pelas sementes	49
4.1.6 Análise sanitária	51
4.2 Avaliações em campo	54
4.2.1 Emergência em canteiro.....	54
4.3 Avaliação do ponto ideal de colheita das sementes.....	58
5 CONCLUSÕES	65
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXO 1.....	78

1 INTRODUÇÃO

O milho é um dos cereais mais cultivados no Brasil sendo de grande importância para a balança comercial de vários países, tanto o produto “in natura” como os subprodutos derivados do cereal (CATÃO et. al., 2007). A produção é destaque nas atividades de pequenos produtores e serve como base na alimentação humana e animal, principalmente em regiões com baixa renda, nas quais o grão é considerado fonte de energia diária (NAVES et al., 2004). No estado do Rio Grande do Sul, entre os produtos de milho comercializados destacam-se as farinhas comuns (grossa, média e fina, conforme o processo de trituração), as farinhas pré-cozidas, a canjica e a pipoca (CALLEGARO et al., 2005). Por possuir alta diversidade genética, o milho pode ser cultivado nos mais diversos ambientes, abrangendo latitudes de 58°N até 40°S, desenvolvendo-se desde o nível do mar até 3.800 m de altitude (HALLAUER e MIRANDA FILHO, 1988).

A agricultura vem se renovando constantemente, em meados da década de 50 ocorreram transformações nesse meio, nos quais as alterações genéticas foram, talvez, as que mais modificaram o trabalho dos agricultores (MENEGUETTI; GIRARDI; REGINATTO, 2002). As sementes crioulas foram sendo cada vez menos cultivadas, visto que houve uma substituição das cultivares crioulas por materiais híbridos, em função da obtenção de maiores produtividades. Atualmente, há uma preocupação dos agricultores e agroecologistas, em resgatar sementes crioulas visando, além de outros objetivos, a preservação da agrobiodiversidade. Essas sementes geralmente são manejadas por pequenos produtores e, por serem mais rústicas, o cultivo é realizado com menor necessidade de gastos com insumos, além de suportarem melhor os estresses bióticos e abióticos (TERRA, 2009).

O rendimento de uma lavoura depende de vários fatores, dentre eles o conhecimento sobre a qualidade das sementes. A importância da qualidade fisiológica e sanitária é imprescindível na implantação da cultura a campo e, a partir deste conhecimento, presume-se o comportamento da produção no decorrer do ciclo. Segundo Muniz et al. (2004) a avaliação do potencial fisiológico das sementes é um importante componente de controle de qualidade, destinado a garantir um desempenho satisfatório das sementes, visto que entre o potencial fisiológico e a

qualidade sanitária há uma relação direta. As modificações verificadas na qualidade fisiológica das sementes normalmente são observadas pelo decréscimo na porcentagem de germinação, no aumento de plântulas anormais e por uma redução de vigor de plântulas (CARVALHO e NAKAGAWA, 1980; SMIDERLE e CÍCERO, 1998).

Considerando a diversidade genética existente entre as cultivares crioulas de milho e a importância da utilização desses materiais pelos agricultores, além da falta de um padrão nas Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) para essas cultivares, torna-se justificável o desenvolvimento de pesquisas que envolvam a adaptação de metodologias para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária em cultivares crioulas.

1.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar diferentes metodologias de análise da qualidade fisiológica e sanitária e estabelecer o ponto ideal de colheita para cultivares crioulas de milho.

1.2 Objetivos específicos

- Analisar as diferentes respostas obtidas com as variações de metodologia utilizadas nos testes de germinação e de vigor das sementes crioulas de milho;
- estudar as variações de incidência de microrganismos associados às diferentes cultivares crioulas de milho em diferentes condições de análise;
- indicar os parâmetros que melhor representarão a qualidade das sementes crioulas de milho referentes aos testes de avaliação da qualidade fisiológica e sanitária;
- estudar o ponto ideal de colheita em sementes de diferentes cultivares por meio de avaliações em diferentes épocas.

1.3 Hipótese

Existe variabilidade de resposta das sementes crioulas de milho quando submetidas às metodologias para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária e na determinação do ponto ideal de colheita.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é classificado como uma planta anual, herbácea, monóica, tendo seu ciclo completo em aproximadamente quatro a cinco meses (PONS e BRESOLIN, 1981). Conforme a classificação botânica, é uma gramínea pertencente a família *Poaceae*, sendo uma espécie diplóide e alógama por excelência, devido a dificuldade de autofecundação, possuindo em quase sua totalidade, reprodução cruzada (PATERNIANI e CAMPOS, 1999). Considera-se uma das plantas cultivadas mais antiga e possui caracterização genética detalhada em comparação as demais espécies cultivadas.

Segundo a Conab (2012) a produtividade média do milho (primeira safra) para safra 2012/2013 é estimada em 4.923 kg.ha⁻¹, 9,9% maior que a safra anterior, visto que esse acréscimo seria reflexo da expectativa na recuperação das produtividades normais nos estados do Sul e do Nordeste que na safra passada foram prejudicadas devido as adversidades climáticas na última temporada. Já a produção nacional do milho, safra de verão, está estimada em 34.477,8 mil toneladas, expressando um acréscimo de 1,8%, se comparado ao exercício anterior.

2.1.1 Sementes crioulas de milho

Cultivares crioulas são designadas como aquelas que, durante um longo período de tempo, passaram por um processo de adaptação a determinadas regiões, através de seleção massal, promovidas por agricultores (PEREIRA et al., 2006), já as cultivares híbridas simples resultam do cruzamento entre duas linhagens puras e são indicadas para sistemas de produção com disponibilização de alta tecnologia, pois possuem o maior potencial produtivo (EMBRAPA, 2009). A domesticação das cultivares crioulas de milho resultaram de sucessivas seleções e plantios de sementes com características desejáveis e eliminação das que não

possuíam essas características (TERRA, 2009). As populações crioulas de milho, também conhecidas como raças locais ou *landraces*, são materiais importantes para o melhoramento, devido ao elevado potencial de adaptação que apresentam às condições ambientais específicas (PATERNIANI et al., 2000) e por constituírem fonte de variabilidade genética que pode ser explorada na busca por genes tolerantes e/ou resistentes aos fatores bióticos e abióticos (ARAÚJO e NASS, 2002). São menos produtivas que as cultivares comerciais, entretanto, são importantes para a sustentabilidade dos pequenos agricultores (ABREU; CANSI; JURIATTI, 2007), além de não requererem elevados investimentos e permitem que o agricultor produza sua própria semente, o que não é viável quando da utilização de híbridos (ROMANO; VERBURG; ROCHA, 2007). O ganho ambiental também é superior, pois essas cultivares, adaptadas localmente, mantêm a diversidade genética das espécies (CECARELLI et al., 1994).

Algumas destas cultivares destacam-se por apresentarem elevada variabilidade genética e adaptação a ambientes rústicos de cultivo, como deficiência hídrica, escassez de nutrientes no solo, excesso de acidez ou alcalinidade (LOUETTE et al., 1997; PATERNIANI et al., 2000). A diversidade genética relacionada a fatores ambientais se deve ao fato do milho ser cultivado em distintas condições de ambiente, desde o extremo norte ao extremo sul, baixas altitudes até altitudes superiores a 2.500 m (TEIXEIRA et al., 2002). O germoplasma de milho é constituído por raças crioulas (locais), populações adaptadas e materiais exóticos introduzidos, sendo caracterizado por uma ampla variabilidade genética (ARAÚJO e NASS, 2002).

2.1.2 Resgate das cultivares crioulas de milho no município de Ibarama/RS

O município de Ibarama localiza-se na região Centro Serra do estado do Rio Grande do Sul e segundo o Censo demográfico de 2010 a população é estimada em 4.371 habitantes sendo que 3.318 vivem no meio rural (IBGE, 2010). Em 1998, famílias do município, através de estímulos por parte de extensionistas rurais da EMATER/RS, passaram a se envolver em procedimentos de resgate, conservação e multiplicação de cultivares crioulas de milho. Em 2008, dez anos após o início do

processo de qualificação de experiências, essa organização evoluiu para então Associação dos Guardiões de Sementes Crioulas de Ibarama com objetivos de multiplicação e conservação de cultivares crioulas, dentre outros (REINIGER et al., 2011).

Os agricultores Guardiões de Sementes Crioulas do município de Ibarama – RS são responsáveis pela manutenção de um patrimônio de grande importância na agricultura, por meio da conservação das sementes crioulas de milho. O cultivo de sementes crioulas possibilita ao agricultor produzir sementes de grande variabilidade genética, resistentes e adaptadas. Segundo Bevilaqua et al. (2009) os agricultores familiares podem ser considerados responsáveis pela manutenção de um patrimônio de relevância para a humanidade, através da conservação das sementes de cultivares crioulas.

2.2 Legislação de sementes

Segundo Valadares et al. (2007) o controle da qualidade das sementes crioulas de milho é importante devido ao fato de que a qualidade das sementes produzidas não é garantida pelo cumprimento de normas e padrões de campo e de laboratórios estabelecidos pelos órgãos certificadores.

Em agosto de 2003, entrou em vigor no Brasil, a atual lei de sementes (Lei n.10.711/03), que estabelece o sistema nacional de sementes e mudas, cujo objetivo é garantir a identidade e a qualidade do material de multiplicação e de reprodução vegetal produzido, comercializado e utilizado em todo país. Em virtude da legislação vigente, as sementes crioulas passaram a ser oficialmente reconhecidas, porém, não há um controle de qualidade fisiológica e sanitária das mesmas (CAMPOS et al., 2006).

A legislação não permite que as sementes crioulas sejam comercializadas, podendo ser trocadas e/ou vendidas somente entre os agricultores. Dessa forma, o estudo de novas metodologias de avaliações da qualidade das sementes que expressem a real condição da qualidade das sementes crioulas, quando submetidas aos testes de avaliação da qualidade fisiológica e sanitária, é de fundamental

importância, para que a variabilidade genética seja contemplada nas diferentes metodologias dos testes de avaliação.

2.3 Qualidade de sementes

Segundo Hampton (2001) a qualidade de sementes, pode ser definida como um padrão de excelência relacionado a atributos, responsáveis pelo desempenho da semente quando semeada ou armazenada. Esses atributos podem ser divididos em físicos, genéticos, sanitários e fisiológicos, e é necessário que as sementes os possuam e mantenham preservados por todo seu ciclo (BRASIL, 2009). Segundo Motta (2002), a qualidade das sementes pode ser influenciada pelos locais e épocas de cultivo, como temperatura, umidade do ar, precipitação e fotoperíodo que variam com a estação do ano e com a latitude das regiões.

2.3.1 Qualidade fisiológica das sementes

As sementes podem sofrer elevadas variações no grau de umidade, conforme as mudanças da umidade relativa do ar, ocasionando dessa forma, prejuízos quanto à conservação das mesmas (MARCOS FILHO et al., 1987). Portanto, a avaliação da qualidade fisiológica é necessária para obtenção de um desempenho satisfatório das sementes, além de estabelecer uma relação direta com o estabelecimento da cultura no campo (QUEIROGA, 2010). Para Lacerda (2007) uma semente de alta qualidade deve possuir elevada capacidade germinativa e ser vigorosa, grau de umidade adequado e de boa aparência geral, com isso poderá haver homogeneidade de população, elevado vigor das plantas e, conseqüentemente, maior qualidade e produtividade.

Para a avaliação das sementes, segundo as Regras de Análises de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), o teste de germinação é o mais indicado, porém os resultados podem ser superestimados devido ao teste, ser realizado em condições

ótimas (BARROS et al., 2002), entretanto, existem testes de vigor que complementam as informações do teste de germinação.

2.3.1.1 Teste de germinação

Para os tecnologistas de sementes, a germinação pode ser definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, o qual possui capacidade de originar uma planta normal, sob condições ambientais favoráveis (IPEF, 1998). Segundo Spina e Carvalho (1986) para apresentar alta sensibilidade, o teste de germinação deve ser realizado em lote com alta homogeneidade, sendo que o objetivo do teste é a determinação do potencial máximo de germinação do lote de sementes, cujo valor poderá servir de base para comparação da qualidade de diferentes lotes e estimação do valor de semeadura no campo (ISTA, 1993).

O teste que avalia a germinação das sementes é conduzido em laboratório sob condições controladas, por meio de métodos padronizados, seguindo as Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009), visando avaliar o valor das sementes para semeadura a campo e qualidade dos diferentes lotes servindo como base de comercialização de sementes (MARCOS FILHO et al., 1987; NOVEMBRE, 1994), sendo que as avaliações de germinação para a cultura do milho são realizadas aos quatro e aos sete dias após a semeadura (BRASIL, 2009). Segundo Borges e Rena (1993), cada cultura apresenta uma faixa de temperatura para germinação e a temperatura considerada ótima é a que expressa elevada porcentagem de germinação das sementes em menor tempo.

2.3.1.2 Testes de vigor

Dentre os fatores que podem afetar o cultivo do milho destacam-se a qualidade e o vigor das sementes, sendo que as características da cultivar e a forma como se conduz seu armazenamento contribuem para o aceleração da perda de vigor (DURÃES et. al., 1993). Segundo Custódio (2005) é através do conhecimento do processo de deterioração das sementes que a pesquisa tem desenvolvido métodos de determinação do potencial fisiológico dos lotes ou vigor de sementes. A avaliação do vigor das sementes é relevante ao agricultor em decisões como a compra de determinados lotes de sementes, quantidade de sementes utilizadas por área e uniformidade do estande da lavoura, dentre outros (WODSTOCK, 1973). Para Carvalho (1986), com relação ao vigor das sementes, é necessária mais de uma característica para obter resultados coerentes que possam indicar o desempenho das sementes, devendo relacionar o vigor com a velocidade de germinação, a uniformidade de emergência, entre outras características.

Entre os testes de vigor mais utilizados, o de comprimento das plântulas parte do princípio que sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento; já o teste de envelhecimento acelerado tem como fundamento que a aceleração da deterioração está relacionada às condições ambientais adversas como alta umidade e temperatura, permitindo que sementes de alto vigor mantenham a qualidade em níveis satisfatórios (DIAS e BARROS, 1995). A primeira contagem de plântulas pode ser considerada como teste de vigor, pois se baseia no desempenho ou características de plântulas, visto que conforme há um aumento de deterioração das sementes, a velocidade de germinação é reduzida. Esse teste é considerado simples e de fácil execução sendo que as amostras que apresentarem maiores valores de germinação no primeiro dia de contagem serão consideradas mais vigorosas. Porém, o teste não possui sensibilidade em detectar pequenas diferenças de vigor entre os lotes analisados (BARROS et. al., 2002).

O teste de frio inicialmente foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o vigor de sementes de milho e posteriormente, foi adaptado a outras espécies (CARVALHO, 1994). Esse teste simula condições adversas que a semente pode sofrer quando exposta a campo, como baixas temperaturas e altas umidades e os resultados do teste demonstram como seria o comportamento da planta, isto é,

quanto mais plântulas normais germinam, maior é o vigor do lote. Outro teste de vigor considerado rápido e eficiente na determinação da viabilidade das sementes, do vigor, da deterioração por umidade e danos mecânicos de secagem e por percevejo é o teste de tetrazólio (CARVALHO, 1994) que baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases nos processos respiratórios dos tecidos (DELOUCHE et. al., 1976). Já o teste do pH do exsudato baseia-se na lixiviação dos solutos e na permeabilidade das membranas. Quando a semente embebe água, ocorre a liberação de açúcares, ácidos orgânicos e íons inclusive H⁺, que contribuem para a acidificação do meio, provocando uma diminuição do pH do exsudato das sementes. As sementes com maior deterioração apresentarão maior lixiviação e, conseqüentemente, exsudatos com maior poder tampão (PESKE e AMARAL, 1986). Ainda, os autores citam que o teste do pH do exsudato é preciso, de baixo custo e pode ser utilizado para outras culturas.

2.3.2 Qualidade sanitária das sementes

De acordo com Lucca Filho (1999) quando os patógenos estão associados as sementes ocorrem perdas de produção devido aos microrganismos veiculados pelas sementes serem introduzidos nos campos de produção. As sementes, propensas a contaminação por patógenos, devem ser tratadas como alternativa de prevenção de danos futuros na lavoura. Machado (2008) salienta a importância da avaliação de sanidade das sementes, sendo que, a associação dos patógenos às sementes pode comprometer tanto o rendimento quanto a qualidade das mesmas. Para sementes de milho são mais comumente utilizados dois métodos de análise sanitária: papel filtro e meio BDA. Segundo Reis et al. (1999), através do método papel filtro, fungos contaminantes se desenvolvem rapidamente, dificultando a identificação e a quantificação de fungos de crescimento lento e, o método BDA é utilizado em substituição a outros métodos que não se adéquam ao crescimento vegetativo e esporulação de fungos e para a detecção de patógenos que produzem colônias características em meio de cultura (LUCCA FILHO, 1987).

O apodrecimento de sementes e os danos as plântulas em pré ou pós emergência de cultivares de milho são associados principalmente aos patógenos

Fusarium moniliforme, *Helminthosporium maydis*, *Colletotrichum graminicola*, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (SHURTLEFF, LUCCA FILHO, 1986,1987).

2.4 Maturação das sementes

Segundo Marcos Filho (2005) a maturidade fisiológica indica o momento em que não há mais transferência de matéria seca da planta para as sementes, apresentando nessa etapa potencial fisiológico elevado. David et. al. (2002) afirma que na maioria das espécies, o momento em que deve ser realizada a colheita é quando as sementes atingem o máximo acúmulo de matéria seca, sendo que este pode ou não coincidir com o máximo de germinação e vigor. A maturidade fisiológica pode ser determinada por diferentes fatores, como presença da camada negra e linha de leite. O diagnóstico através da camada negra embora seja aceito como indicador da maturidade das sementes possui variabilidade quanto a aparência e imprecisão do momento de ocorrência (FARIA et. al., 2005). O diagnóstico através da linha de leite é considerado eficiente por ser facilmente monitorado e detectado no campo além de não ser necessário uso de equipamentos (TEKRONY e HUNTER, 1995). O processo de maturação das sementes de milho pode ser acompanhado através da linha de leite, através da progressiva solidificação do endosperma leitoso, devido à conversão da sacarose em amido, iniciando no ápice e terminando na base da semente (FARIA et. al., 2002).

O retardamento da colheita de sementes, para que haja a maturação e secagem das mesmas, pode ser fator de risco tanto na diminuição de qualidade como também na perda das sementes (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2004) devido ao ataque de insetos e microorganismos que favorecem o processo de deterioração (HENNING et. al., 2011). Para Aguiar, Perecin e Kageyama (1988), a maturação fisiológica das sementes pode ser verificada através de mudanças no aspecto externo e na coloração dos frutos e sementes. Uma colheita com alta qualidade e produtividade deve ser planejada e ter a época de colheita definida, e para isso é necessário conhecimento sobre o processo de maturação das sementes (DIAS, 2001). O estudo direcionado ao período de maturação das sementes visa diminuir esses riscos orientando, dessa forma, o produtor ao momento ideal de

colheita aliado a máxima qualidade fisiológica e sanitária das sementes (ARAÚJO et. al., 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas as sementes das cultivares crioulas de milho denominadas Amarelão, Bico de Ouro, Brancão, Cinquentinha, Cunha, Mato Grosso, Sertanejo e uma cultivar híbrida simples de milho SHS 5050 (Santa Helena Sementes), superprecoce, da safra 2011/2012, como testemunha. As sementes crioulas de milho são provenientes do município de Ibarama (29°25'10" S, 53°08'05" W e altitude de 317 m), localizado na microrregião Centro-Serra do Rio Grande do Sul e foram produzidas pelos Guardiões de Sementes Crioulas do Município.

3.1 Avaliações em laboratório

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi no Departamento de Defesa Fitossanitária (DFS) do Centro de Ciências Rurais (CCR) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – RS.

3.1.1 Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido com oito repetições de 50, totalizando 400 sementes. As sementes foram semeadas em substrato de papel filtro tipo *Germitest* previamente umedecido com volume de água destilada e esterilizada, correspondente a 2,5 vezes a massa do substrato seco, e colocadas no germinador à temperatura 25°C, conforme as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Também foram testadas temperaturas inferiores à recomendada (20°C) e acima (30°C), sendo que a primeira avaliação foi realizada no quarto dia e nos dias subsequentes (6º, 8º, 10º dias), novas contagens foram feitas, computando-se a porcentagem de plântulas normais. As avaliações foram realizadas, em cada cultivar, conforme as diferentes temperaturas testadas e diferentes dias de

contagens realizados. A germinação total de plântulas foi obtida através do somatório das plântulas normais obtidas em todos os dias de contagens (4^o, 6^o, 8^o e 10^o dias) e em cada temperatura (20°C, 25°C e 30°C).

3.1.2 Testes de vigor

3.1.2.1 Teste de frio

Para o teste de frio foram semeadas, em substrato de rolo de papel *Germitest*, oito repetições de 50 sementes por tratamento, totalizando 400 sementes. Os rolos de papel com as sementes foram acondicionados em sacos plásticos, fechados e, posteriormente, colocados em câmara regulada a 10°C, os quais permaneceram por sete dias. Após esse período, os rolos, foram colocados em germinador regulado a 25°C, permanecendo por mais sete dias e então, realizadas as contagens de plântulas normais. Essa técnica foi adaptada de Loeffler et al. (1985).

As variações do teste de frio foram obtidas utilizando-se temperaturas de aproximadamente 0°C e 5°C, combinadas com períodos de exposição (três, cinco e sete dias), após estes períodos, as sementes foram retiradas da câmara fria, colocadas em germinador regulado a 25°C, permanecendo por sete dias e submetidas ao teste de germinação, como já descrito acima e os valores obtidos em cada temperatura e período de exposição testados, foram comparados por cultivar.

3.1.2.2 Teste de tetrazólio

Para o teste de tetrazólio foram utilizadas oito repetições de 50 sementes, as quais foram submetidas à embebição em água destilada, por um período de 24h à 25°C \pm 3 °C, em germinador. Ao término da embebição, as sementes foram seccionadas no sentido longitudinal, com exposição do embrião e endosperma. Logo

em seguida, foram imersas em solução de sal de tetrazólio (2, 3, 5 – trifenil cloreto de tetrazólio) com pH 7,0, nas concentrações de 0,07%, 0,1% e 0,3% e mantidas no escuro, durante 2 horas e meia a temperatura de 25°C (BRASIL, 2009).

Após o desenvolvimento da coloração, os embriões foram submetidos a lavagem em água corrente e permaneceram submersos em água até o momento da avaliação, conforme as concentrações da solução de tetrazólio utilizadas. A avaliação foi realizada considerando-se as porcentagens de sementes viáveis.

3.1.2.3 Teste do pH do exsudato individual

Foram utilizadas oito subamostras de 50 sementes por tratamento, distribuídas em copos plásticos, adaptado de Peske e Amaral (1994). Cada copo recebeu 2 mL de água destilada, de maneira que cada semente ficou submersa. Os períodos de embebição estudados foram: 15, 30, 45 e 60 minutos, numa sala à temperatura de 25°C ± 3°C. Após os referidos períodos, foram adicionadas duas gotas da solução de carbonato de sódio (2,4 g.L⁻¹) e fenolftaleína (0,5%), em cada copo, mexendo-se em seguida com auxílio de um bastonete de vidro. A interpretação foi realizada comparando-se a coloração do exsudato de cada copo com uma solução padrão, obtido em um copo plástico na ausência de semente.

As sementes contidas nos copos cujas soluções apresentaram coloração rosa fraco e incolores foram consideradas viáveis. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis.

3.1.3 Quantidade de água absorvida pelas sementes

Foram avaliadas quatro repetições de 25 sementes para cada cultivar, as quais foram dispostas uniformemente em *gerbox* entre folhas de papel de germinação estéril e umedecidas com água destilada, na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel seco. O teste foi conduzido em estufa tipo B.O.D. ajustada à temperatura de 25 e 30°C ±3°C. As avaliações foram realizadas de três em três

horas a partir da incubação das sementes em B.O.D (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas), conforme metodologia adaptada de Borges et al. (2009). As sementes foram pesadas secas, antes do início e a cada três horas, para estabilização da curva de absorção de água pelas sementes.

3.1.4 Análise Sanitária

3.1.4.1 Método Papel Filtro

A qualidade sanitária foi avaliada através do teste de sanidade por meio do método do papel filtro ou “Blotter Test”. Foram utilizadas 16 repetições de 25 sementes de cada cultivar, as quais foram distribuídas em caixas plásticas do tipo *gerbox*, previamente desinfestadas com etanol a 70% e, após, com hipoclorito de sódio a 1% por 1 min. As sementes foram acondicionadas sobre três folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e autoclavada. As sementes foram incubadas em câmara B.O.D. a $25 \pm 3^\circ\text{C}$, com 12 horas em regime de luz, durante 24 horas. Em seguida, para a inibição da germinação, foram submetidas ao método do congelamento por 24 horas. Após esse procedimento, foram, então, incubadas a 25°C por sete dias, em regime de 12 horas de luz conforme metodologia proposta por Brasil (2009). Finalizado esse período, as sementes foram examinadas individualmente com o auxílio de lupa e microscópio óptico para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados ao nível de gênero, com o auxílio da bibliografia especializada de Barnett; Hunter (1998) considerando-se a incidência de fungos nas sementes.

3.1.4.2 Método BDA

Para o plaqueamento em meio ágar 100 sementes foram distribuídas em quatro placas de Petri com meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) (Anexo 1), totalizando 25 sementes por placa. A incubação foi desenvolvida em câmara de crescimento com controle de luz a $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ por sete dias. Após esse período foi realizada a identificação e a quantificação dos fungos associados às sementes, com auxílio de lupa e microscópio óptico.

3.1.5 Delineamento Experimental

O delineamento experimental empregado nos testes acima foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos com o teste de germinação, foram analisados em arranjos bifatoriais e submetidos a análise de regressão. Os testes de frio, pH exsudato, quantidade de água absorvida pelas sementes, tetrazólio e sanidade foram submetidos á análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se para a análise dos dados o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000). No teste de tetrazólio e pH do exsudato as médias foram comparadas com a testemunha pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade através do programa estatístico ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2002). O programa também foi utilizado na verificação da associação entre variáveis, pela análise de correlação simples.

3.2 Avaliações em campo

O experimento foi realizado no estado do Rio Grande do Sul, no interior do município de Santa Maria, nas coordenadas aproximadas de $29^{\circ} 40' 34.7''$ S, $53^{\circ} 38' 34.8''$ W e altitude de aproximadamente 95 m. O solo pertence a unidade de mapeamento Vacacaí (Embrapa, 1999) e é classificado como Planossolo. O clima

da região possui classe “Cfa” com um clima subtropical chuvoso, com chuvas bem distribuídas ao ano, sem estações secas e úmidas bem definidas, segundo classificação de Köppen (MORENO, 1961).

3.2.1 Emergência de plântulas em canteiro

As sementes foram semeadas em canteiro sendo utilizadas quatro subamostras de 25 sementes. Foram feitas irrigações diárias, e as avaliações ocorreram até o 11º e o 15º dia após a semeadura, dependendo da cultivar, quando a emissão de plântulas tornou-se constante, computando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas.

3.2.2 Índice de velocidade de Emergência (IVE)

Este teste foi realizado em conjunto com o de emergência das plantas em canteiro, no qual foram realizadas observações diárias a partir do dia em que a primeira plântula emergiu do solo. As contagens foram realizadas diariamente, até o momento em que o número de plântulas tornou-se constante. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plântulas emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962), pela fórmula:

$$\text{IVE} = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$$

Onde: **IVE** = índice de velocidade de emergência;

E1, E2, En = número de plântulas emergidas, computadas na primeira, na segunda e na última contagem;

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

3.2.3 Altura da planta

A avaliação da altura da planta foi também realizada em conjunto com o teste de emergência, determinando-se o comprimento de parte aérea de dez plantas, por repetição, aos 15, 20 e 23 dias após a semeadura adaptada de Bahry et. al., (2007). As medidas das plantas foram realizadas do nível do solo até a extremidade da folha mais alta alocada na vertical. Os resultados foram determinados em centímetros, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. Calculou-se o comprimento médio por altura da planta (cm/altura), dividindo o somatório dos valores obtidos pela altura de plantas mensuradas.

3.2.4 Massa seca e fresca de parte aérea

A massa fresca foi obtida pela pesagem em balança, com precisão de 0,001g, de parte aérea de plantas normais obtidas ao final do teste de emergência aos 23 dias. Calculou-se a massa média, somando-se a massa de dez plantas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plantas normais pesadas, com resultados expressos em g.plantas^{-1} . Após, para determinação da massa seca, as plantas foram colocadas em sacos de papel e acondicionadas em estufa com circulação de ar, regulada a 60°C, onde permaneceram por um período de cinco dias, momento em que a massa seca estabilizou em todas as repetições. A pesagem do material seco foi realizada em balança com precisão de 0,001g, e a massa para cada repetição foi dividida pelo número total de plantas, obtendo-se assim, a massa média da matéria seca, expressa em grama por planta.

3.2.5 Avaliação da maturação de sementes

A semeadura foi iniciada em novembro de 2011 e as cultivares foram semeadas com intervalos de 15 dias para evitar a ocorrência de cruzamentos entre

si. Foram avaliadas três cultivares crioulas de milho provenientes do município de Ibarama/RS, sendo elas Amarelão, Bico de Ouro e Cinquentinha, em quatro repetições. O espaçamento utilizado foi de 0,90 m na entrelinha e 0,40 m por planta, sendo em média 27.777 plantas ha⁻¹ e total de 45 plantas por linha, perfazendo 18 m por parcela, sendo que as parcelas não obedeceram a qualquer delineamento. A adubação de cobertura foi realizada com uréia (100 kg.ha⁻¹), e os tratamentos culturais utilizados nos experimentos foram capina, desbaste após 20 dias da semeadura e aplicação de Deltametrina (30 mL.100L d'água) contra o ataque de lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). Devido à estiagem ocorrida durante a safra, fez-se o uso de irrigação manual diária (duas vezes ao dia).

A determinação da época da colheita das sementes foi realizada através de acompanhamentos diários e inspeção visual das características da espiga como cor da palha, "boneca" da espiga, características do colmo e folhas da planta de milho. Os pontos de colheita foram determinados através da análise das sementes quanto à solidificação do endosperma (verificado através da inspeção visual e grau de umidade das sementes) baseado na escala de Hunter et al. (1991), (Tabela 1). Através dessas informações, as espigas foram colhidas (cinco espigas por repetição), em cada ponto de colheita, debulhadas e levadas ao laboratório para realização do teste de umidade e dos demais testes de avaliação da qualidade fisiológica e sanitária das sementes.

Tabela 1 – Pontos de colheita (PC), caracterizados pela porcentagem de umidade e solidificação do endosperma. Adaptada de Hunter et al. (1991).

PC	Umidade	Solidificação Endosperma
1	45 a 50%	25%
2	35 a 40%	50%
3	30 a 35%	75%
4	20 a 30%	100%

Para os testes de laboratório as sementes foram secas ao sol até atingirem aproximadamente 12% de umidade e após debulhadas. Os testes realizados para

avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes, em cada época de colheita, foram: determinação do grau de umidade, sanidade em papel filtro, germinação, primeira contagem de germinação e teste de frio.

3.2.5.1 Determinação do grau de umidade

A determinação da umidade foi realizada, utilizando-se o método da estufa a 105°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) por 24 horas, conforme previsto nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O peso da matéria seca foi determinado secando-se 50 g de sementes de cada amostra, em estufa a 105°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) por 24 horas, sendo a seguir pesadas e os resultados expressos em g, através da fórmula:

$$\% \text{ de umidade (U)} = \frac{100(P - p)}{P - t}$$

Onde, **P**= peso inicial, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente úmida;

p= peso final, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente seca;

t = tara, peso do recipiente com sua tampa.

3.2.5.2 Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido com oito repetições de 50, totalizando 400 sementes. As sementes foram semeadas em substrato de papel filtro tipo *Germitest* previamente umedecido com volume de água destilada e esterilizada, correspondente a 2,5 vezes o peso do papel, e colocadas no germinador à temperatura 25°C, conforme as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). As contagens foram realizadas ao 4º e 7º dia. Na primeira contagem (4º dia) foram retiradas somente as plântulas consideradas normais e no último dia de contagem

(7º dia) computou-se as porcentagens de plântulas normais, avaliando-se também a porcentagem de plântulas anormais e sementes mortas.

3.2.5.3 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com oito repetições de 50 sementes, semeadas em rolo de papel filtro, umedecido com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida, os rolos foram acondicionados em sacos plásticos, permanecendo por sete dias em câmara à temperatura constante de 10°C. Após esse período, os mesmos foram transferidos para o germinador (20°C-30°C) onde permaneceram por mais sete dias. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas.

3.2.5.4 Teste de sanidade

O teste de sanidade foi realizado através do método do papel filtro ou *Blotter Test*. Utilizou-se uma amostra de 400 sementes de cada cultivar, dividida em oito repetições de 50, colocadas em caixas plásticas do tipo *gerbox*, previamente desinfestada com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, sob duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a 25°C, com 12 horas de regime de luz, totalizando 24 horas. Em seguida, para a inibição da germinação, foram submetidas ao método do congelamento por 24 horas. Após esse procedimento, foram então incubadas a 25°C por sete dias, com 12 horas de regime de luz conforme metodologia proposta por Brasil (2009). As análises foram realizadas com o auxílio de lupa e microscópio óptico para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados ao nível de gênero, com o auxílio da bibliografia especializada de Barnett; Hunter (1998), determinando-se a porcentagem de sementes infestadas por fungos.

3.2.6 Delineamento experimental

O delineamento experimental empregado nos testes avaliados em laboratório foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados obtidos com os testes de germinação, frio e sanidade a campo, foram submetidos á análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se para a análise dos dados o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000). Para os testes realizados em canteiro, as médias foram comparadas com a testemunha pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade através do programa estatístico ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2002).

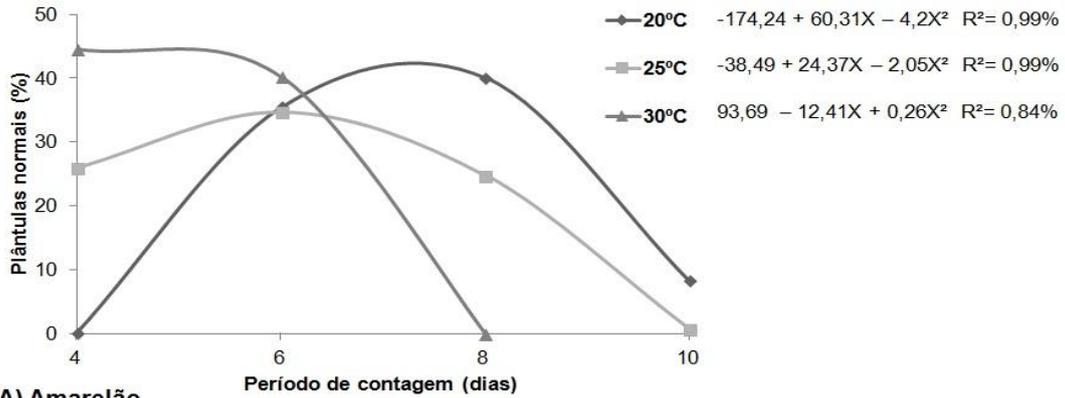
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Testes em laboratório

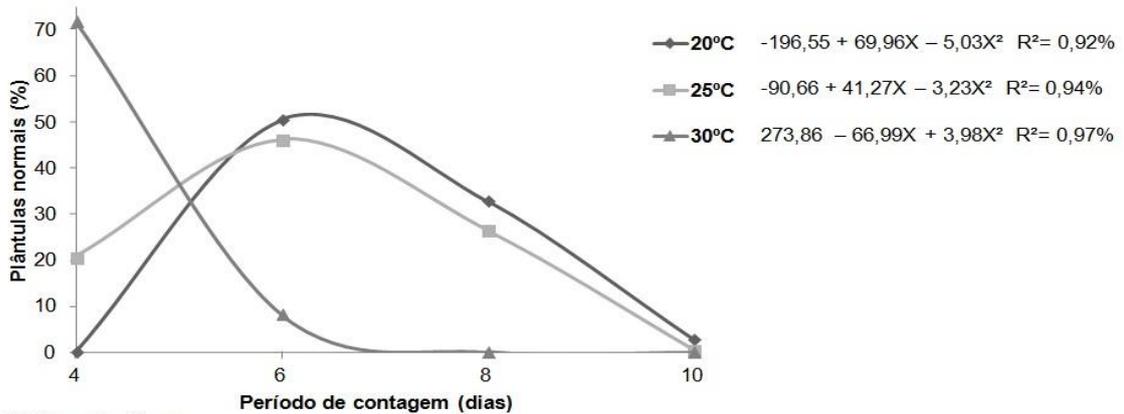
4.1.1 Germinação

Para ter êxito na estabilização de uma cultura é imprescindível que o lote de sementes contenha elevada porcentagem de germinação e homogeneidade no processo germinativo (CARNEIRO et al., 2001). Na Figura 1, encontram-se os resultados das plântulas normais de cultivares crioulas de milho, avaliadas em diferentes dias de contagens e temperaturas. Os valores de plântulas normais variaram de 0% a 90% entre os parâmetros avaliados. Para as cultivares Amarelão, Cunha e Sertanejo, não houve diferença significativa entre o 6º e 8º dia de contagem, quando avaliadas à temperatura de 20°C, sendo que nesses dias houve maior número de plântulas normais. Avaliadas na mesma temperatura, Bico de Ouro, Cinquentinha, Mato Grosso e a cultivar híbrida obtiveram as maiores médias no 6º dia, diferindo estatisticamente dos outros dias avaliados, já Brancão apresentou dados satisfatórios para início de contagem no 8º dia. Observa-se que as cultivares apresentaram uma tendência quadrática para as avaliações nas temperaturas e dias de contagens.

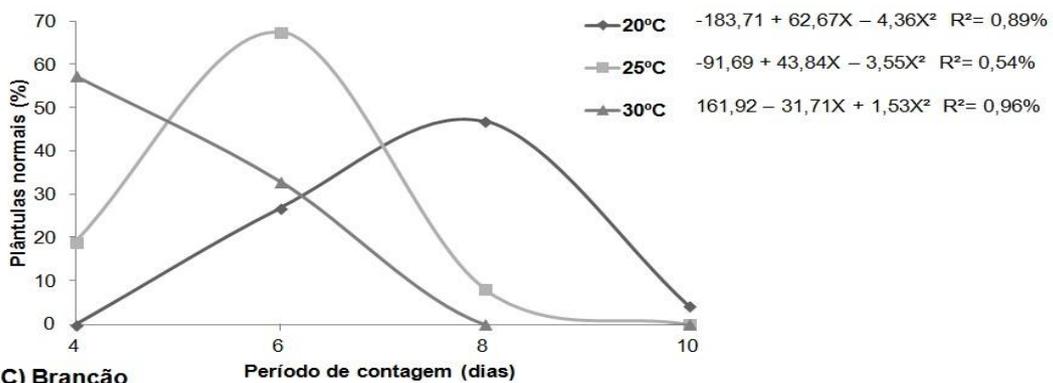
Quando avaliados a 25°C os materiais crioulos apresentaram as maiores médias no 6º dia, contudo Mato Grosso e híbrido obtiveram as maiores médias no 4º dia. Segundo as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009), para as cultivares de milho, a primeira contagem de plântulas normais deve ser realizada no 4º dia. Brand et al. (2007) verificaram que na primeira contagem de germinação realizada aos quatro dias, as cultivares crioulas de milho Dente de Ouro Amarelo, Cateto Amarelo e Sabuguinho não diferiram estatisticamente e apresentaram as médias entre 52,04% e 69,6%.



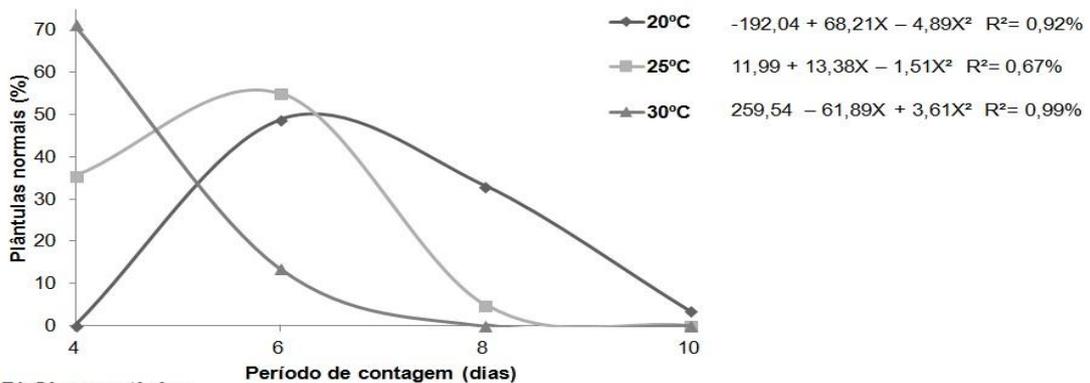
A) Amarelo



B) Bico de Ouro

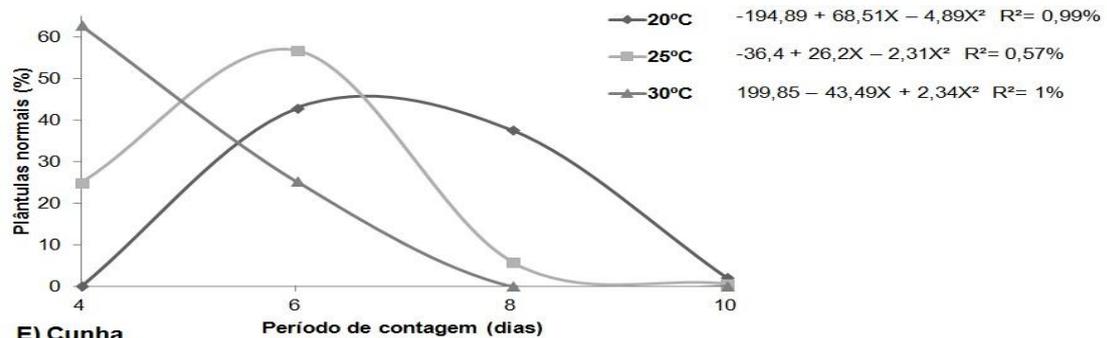


C) Brancão

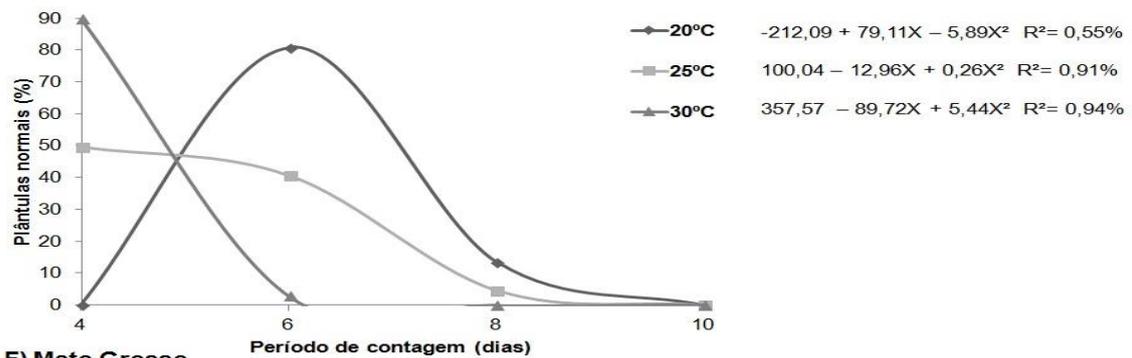


D) Cinquentinha

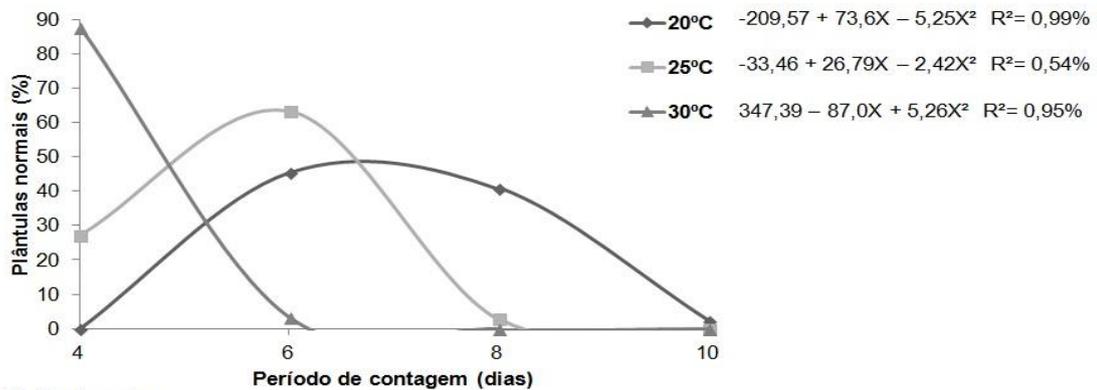
continuação...



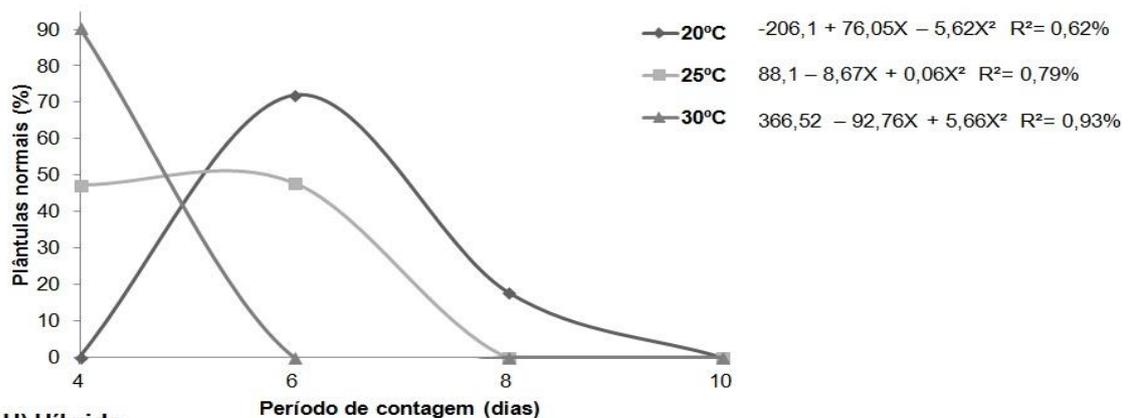
E) Cunha



F) Mato Grosso



G) Sertanejo



H) Híbrida

Figura 1 – Plântulas normais (%) de cultivares crioulas e híbrida de milho avaliadas em diferentes dias de contagens e temperaturas. Santa Maria – RS, 2012.

As cultivares crioulas quando submetidas a 30°C, apresentaram os maiores valores médios de plântulas normais ao 4º dia de contagem e a cultivar Amarelão não diferiu entre o 4º e 6º dia de contagem. As avaliações realizadas à 30°C apresentaram as maiores médias no período de contagem de quatro dias, após o 8º dia as cultivares tiveram valores médios baixos, indicando que o primeiro dia de contagem de plântulas normais deve ser realizado no 4º dia. Para temperatura inferior, 20°C, a avaliação realizada no 4º dia não apresentou plântulas desenvolvidas, portanto, a indicação da primeira contagem nessa temperatura, deve ser no 6º dia.

Para a germinação total (Tabela 2), a maioria das cultivares apresentou médias acima de 80% nas três temperaturas. Houve diferença significativa entre as temperaturas nas cultivares Bico de Ouro, Brancão, Cinquentinha e Cunha, sendo a temperatura que apresentou as maiores médias de germinação, aos 25°C.

Tabela 2 – Valores médios (%) de Germinação Total (aos dez dias de contagem) das cultivares crioulas e híbrida de milho em diferentes temperaturas.

Cultivar	Germinação Total (%)			CV(%)
	20°C	25°C	30°C	
Amarelão	84 a*	86 a	85 a	18,94
Bico de Ouro	86 ab	94 a	80 b	24,04
Brancão	78 b	95 a	90 a	16,86
Cinquentinha	85 b	95 a	85 b	20,19
Cunha	82 b	88 a	88 a	16,19
Mato Grosso	94 a	95 a	92 a	14,42
Sertanejo	88 a	93 a	91 a	12,47
Híbrida	90 a	95 a	90 a	14,04

*Letras diferentes minúsculas na mesma linha diferem significativamente em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Catão et al. (2010), em estudo com cultivares crioulas de milho produzidas no norte de Minas Gerais constataram que entre as cultivares avaliadas, Amarelão apresentou a menor média de germinação (80%) e as demais acima de 90%. Borba et al. (2005), trabalhando com genótipos de milho tropical avaliou a germinação em

diferentes temperaturas e constatou que na maioria dos genótipos estudados, a germinação foi mais rápida à temperatura de 35°C e, nas temperaturas de 0°C e 45°C não houve germinação das sementes.

4.1.2 Teste de frio

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, verificou-se que houve diferença significativa com relação às cultivares na temperatura 0°C, quando avaliadas nos períodos de exposição à baixa temperatura, com exceção de Mato Grosso e Sertanejo que não diferiram entre os três períodos de tempo em que as sementes foram expostas ao estresse causado pelo frio.

A cultivar Amarelão apresentou maior média (78%), na temperatura de 0°C quando submetida por sete dias, indicando que essa cultivar, por suportar menores temperaturas sem grande interferência em sua germinação, pode ser cultivada nos meses de temperaturas mais baixas. Miguel e Cícero (1999) em estudo com sementes de feijão verificaram que, de um modo geral, as sementes quando submetidas aos períodos maiores de exposição às baixas temperaturas tendem a sofrer maior estresse em comparação aos períodos menores, ocasionando menor porcentagem de plântulas normais. Segundo Wassink e Hoefman (1992) em períodos de frio mais prolongado, verifica-se uma maior exsudação de açúcares da semente, dessa forma há tendência de maior desenvolvimento de patógenos prejudicando o desempenho fisiológico das sementes.

As cultivares Brancão e Sertanejo apresentaram valores acima de 89% de plântulas normais quando avaliadas a temperatura de 5°C por cinco dias. Segundo Grabe (1976), os lotes de sementes com qualidade adequada devem apresentar valores mínimos entre 70 a 80% no teste de frio. Verificaram-se valores abaixo do desejável para a cultivar Cunha, quando submetida a 5°C, por três e sete dias (65% e 62%, respectivamente).

Tabela 3 – Plântulas normais (%) de cultivares crioulas e híbrida de milho avaliadas através do Teste de Frio em diferentes Períodos de Exposição e Temperaturas (T).

Amarelão				Bico de Ouro		
Períodos de Exposição (dias)						
T (°C)	3	5	7	3	5	7
0	73 Bab*	68 Bb	78 Aa	62 Aa	52 Bb	29 Cc
5	77 Abb	72 Bb	87 Aa	86 Aa	88 Aa	75 Bb
10	86 Aab	91 Aa	81 Ab	83 Aa	86 Aa	86 Aa
CV(%)	6,79			6,66		

Brancão				Cinquentinha		
Períodos de Exposição (dias)						
T (°C)	3	5	7	3	5	7
0	93 Aa	88 Ba	75 Bb	90 ABa	74 Bb	77 Bb
5	83 Bb	95 Aa	77 Bb	83 ba	76 Ba	79 Ba
10	83 Bb	94 Aab	91 Aa	93 Aa	92 Aa	92 Aa
CV(%)	4,08			5,93		

Cunha				Mato Grosso		
Períodos de Exposição (dias)						
T (°C)	3	5	7	3	5	7
0	70 Ba	51 Bb	39 Cc	63 Ca	73 ba	72 Ba
5	65 Bab	62 Bb	76 Ba	79 Ba	82 Ba	85 Aba
10	91 Aa	88 Aa	90 Aa	96 Aa	98 Aa	98 Aa
CV(%)	9,72			9,93		

Sertanejo				Híbrida		
Períodos de Exposição (dias)						
T (°C)	3	5	7	3	5	7
0	76 Ba	82 Aa	74 Aa	89 Aa	77 Abab	59 Ab
5	76 Bb	89 Aa	77 Ab	78 Aa	81 Aa	66 Aa
10	88 Aa	86 Aa	73 Ab	76 Aa	54 Ba	60 Aa
CV(%)	6,26			21,22		

*Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha diferem significativamente em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Com exceção da cultivar híbrida, os valores encontrados a temperatura de 10° foram acima de 80%, indicando que as cultivares possuem maior qualidade fisiológica quando submetidas a menor condições de estresse. A submissão das sementes a 0°C mostra oscilações maiores de plântulas consideradas normais,

variando de 29% a 93%. Para cultivar híbrida, a temperatura e período de exposição que apresentaram qualidade fisiológica superior foi 0°C por três dias. Já, quando exposta a sete dias, nessa mesma temperatura, houve redução significativa de desenvolvimento de plântulas normais, apresentando valores abaixo de 65%, da mesma forma, Bico de Ouro apresentou valores relativamente baixos quando avaliada à temperatura de 0°C pelo período de sete dias. As cultivares Brancão, Cinquentinha e Cunha apresentaram valores significativos a 0°C nos três períodos de estresse causado pelo frio.

4.1.3 Teste de tetrazólio

Verificou-se que, nas três concentrações de sal de tetrazólio que as cultivares foram avaliadas (0,07%, 0,1% e 0,3%) os valores de sementes viáveis foram acima de 80%, demonstrando alto vigor destas, com exceção da cultivar Sertanejo, que apresentou valores inferiores (74%) (Tabela 4).

Segundo Araújo et al. (2000), o teste de tetrazólio em camada de aleurona baseia-se na coloração das sementes, sendo que a coloração avermelhada de regiões designa as células vivas e a não coloração, as células mortas, devido à presença ou ausência, respectivamente, de atividade enzimática. As cultivares avaliadas na concentração de 0,07% da solução tetrazólio mostraram que, com exceção da Sertanejo, as demais apresentaram resultados significativos e superiores a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade de erro. Já na concentração de 0,1%, Sertanejo mostrou resultado significativo e inferior a testemunha. As cultivares Cunha e Sertanejo, na concentração de 0,3%, apresentaram valores significativos e inferiores e as demais cultivares não diferiram da testemunha. Verificou-se que para a testemunha (híbrida) a concentração 0,07% foi insuficiente para coloração das sementes, visto que nas outras concentrações (0,1% e 0,3%) as médias de sementes viáveis foram acima de 91%. Segundo as Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) a concentração de tetrazólio indicada para a cultura do milho é de 0,1% por duas horas em temperatura de 30°C.

Tabela 4 – Valores médios (%) de viabilidade de sementes de cultivares crioulas de milho comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho) e em diferentes concentrações avaliadas pelo teste de tetrazólio.

Cultivares	Sementes viáveis		
	Concentrações de Tetrazólio		
	0,07 (%)	0,1 (%)	0,3 (%)
Amarelão	93 ⁺ a*	89 a	93 a
Bico de Ouro	89 ⁺ a	90 a	92 a
Brancão	91 ⁺ a	96 a	93 a
Cinquentinha	95 ⁺ a	92 a	91 a
Cunha	91 ⁺ ab	95 a	85 ⁻ b
Mato Grosso	98 ⁺ a	97 a	98 a
Sertanejo	76 ab	74 ⁻ b	87 ⁻ a
Testemunha	68 b	91 a	96 a
CV (%)	6,63	5,22	4,64

+ Significativo e superior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

- Significativo e inferior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

* Letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Nery et al. (2007) trabalhando com sementes de melancia verificou que a resposta ao teste de tetrazólio depende das concentração e tempo de solução e verificou que a concentração de 0,075% por três horas não permitiu a diferenciação de lotes de sementes de melancia, já nas concentrações de 0,075% por quatro horas e 1% por 3 horas, houve a separação dos lotes em três níveis de qualidade. Chamma e Novembre (2007) verificaram que cinco horas são suficientes para a hidratação e a coloração das sementes de milho para o teste de tetrazólio e que os tecidos das sementes, mantidas em solução de tetrazólio por uma hora, apresentavam a cor clara, dificultando, dessa forma, a avaliação. Para Fogaça et al. (2011) após submeter sementes de *Sorghum bicolor* L. a concentrações de 0,075% e 0,1% por 5 horas verificaram que as sementes apresentaram coloração intensa, impossibilitando a avaliação das condições dos tecidos. Em experimento com *Parkia velutina* Benoist, as sementes foram submetidas à concentração de 0,1% de tetrazólio e não coloriram o suficiente para a correta interpretação dos resultados sendo necessárias concentrações de 0,5% e 1% para colorações dos embriões (MENDES et al., 2009).

Algumas sementes apresentaram danos por insetos (carunchos) causando deterioração nos tecidos dos cotilédones e eixo embrionário. As sementes não viáveis dividiram-se em sementes com danos por insetos e semente que apresentaram coloração vermelho intensa podendo indicar danos mecânicos (para cultivar híbrida). Segundo Delouche (2002), através do teste de tetrazólio, os danos fisiológicos e necroses nas sementes são verificados através de colorações intensas de vermelho e branco (ou cor natural da semente), e é facilmente diagnosticada a natureza progressiva da deterioração.

4.1.4 Teste pH do exsudato

Na Tabela 5 encontram-se os valores médios referentes ao teste do pH do exsudato para sementes crioulas e híbrida de milho avaliadas em diferentes períodos. Com exceção das cultivares Cinquentinha e Cunha, as cultivares crioulas apresentaram diferença significativa quando comparadas à testemunha (híbrida) nos períodos em contato com a solução do pH do exsudato. A cultivar Bico de Ouro diferiu entre os períodos de tempo estudados, apresentando resultados mais significativos de sementes viáveis quando permaneceram por 60 minutos imersas em água e avaliadas pelo pH do exsudato. Barros (1988) não detectou diferença entre lotes de sementes de milho por este teste nos tempos iniciais de embebição. No presente trabalho todas as cultivares apresentaram valores acima de 79% nos períodos de embebição que foram testadas. Para Amaral e Peske (1984) em trabalho com sementes de soja concluíram que é possível estimar-se o poder germinativo de sementes de soja através do pH do exsudato, por um período de 30 minutos. Fernandes, Sader e Carvalho (1987) encontraram resultados semelhantes em sementes de feijão, concluindo que o período de 30 minutos de embebição é o mais eficiente para estimar o poder germinativo das sementes. A maioria das cultivares, nos períodos de embebição de 15 e 45 minutos, apresentaram valores significativos e inferiores à testemunha quando comparadas pelo teste de Dunnett. Já no período de embebição de 60 minutos, com exceção de Brancão, Mato Grosso e Sertanejo, as demais não apresentaram diferenças significativas quando comparadas a testemunha.

Tabela 5 – Valores médios do pH do exsudato de sementes crioulas de milho comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho) e em diferentes períodos de embebição.

Cultivares	Períodos de Embebição			
	Sementes Viáveis (%)			
	15 (min)	30 (min)	45 (min)	60 (min)
Amarelão	82 ^{- a*}	86 a	89 a	85 a
Bico de Ouro	81 ^{- b}	82 ab	87 ^{- ab}	87 a
Brancão	83 ^{- a}	82 a	81 ^{- a}	83 ^{- a}
Cinquentinha	89 a	85 a	85 ^{- a}	87 a
Cunha	88 a	87 a	87 ^{- a}	88 a
Mato Grosso	83 ^{- a}	85 a	84 ^{- a}	83 ^{- a}
Sertanejo	81 ^{- a}	80 ^{- a}	83 ^{- a}	82 ^{- a}
Testemunha	93 a	91 a	96 a	94 a
CV (%)	5,57	6,11	3,92	5,67

+ Significativo e superior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

- Significativo e inferior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

* Letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em todos os períodos de embebição estudados, a testemunha apresentou porcentagens de sementes viáveis superiores ou iguais as cultivares crioulas. A testemunha (cultivar híbrida) apresentou valores superiores a 91% de sementes viáveis correspondendo aos valores de germinação que foram acima de 90% para cultivar. As cultivares crioulas também apresentaram semelhança entre os valores encontrados de sementes viáveis através do teste do pH do exsudato e avaliação da germinação, sendo que para cultivar Mato Grosso, os valores na avaliação pelo pH do exsudato foram subestimados, expressando em torno de 84% de sementes viáveis enquanto a germinação foi em média 94%. Santana (1998) determinou diferenças em lotes de sementes por um período de embebição de sementes de 30 minutos à temperatura de 25°C. O autor salienta que as sementes podem ser separadas em níveis de qualidade embora tenha encontrado valores superestimados aos encontrados através do teste de germinação.

4.1.5 Quantidade de água absorvida pelas sementes

Na figura 2 encontram-se as curvas de embebição para as sementes das cultivares crioulas de milho a 25°C e 30°C. As cultivares apresentaram somente a Fase I de embebição definida. As fases II e III não foram observadas, pois as avaliações ocorreram somente no período de 24 horas. Segundo Bewley e Black (1994) o processo de absorção de água pelas sementes obedece ao padrão trifásico no qual a fase I, denominada embebição, ocorre independentemente das sementes serem viáveis ou dormentes. Para Villela, Marcos Filho e Novembre (2003) em trabalho com sementes de milho, destacaram que na fase de embebição, os embriões das sementes de lotes com menor potencial fisiológico tendem a absorver maior quantidade de água quando comparado a lotes com maior potencial fisiológico.

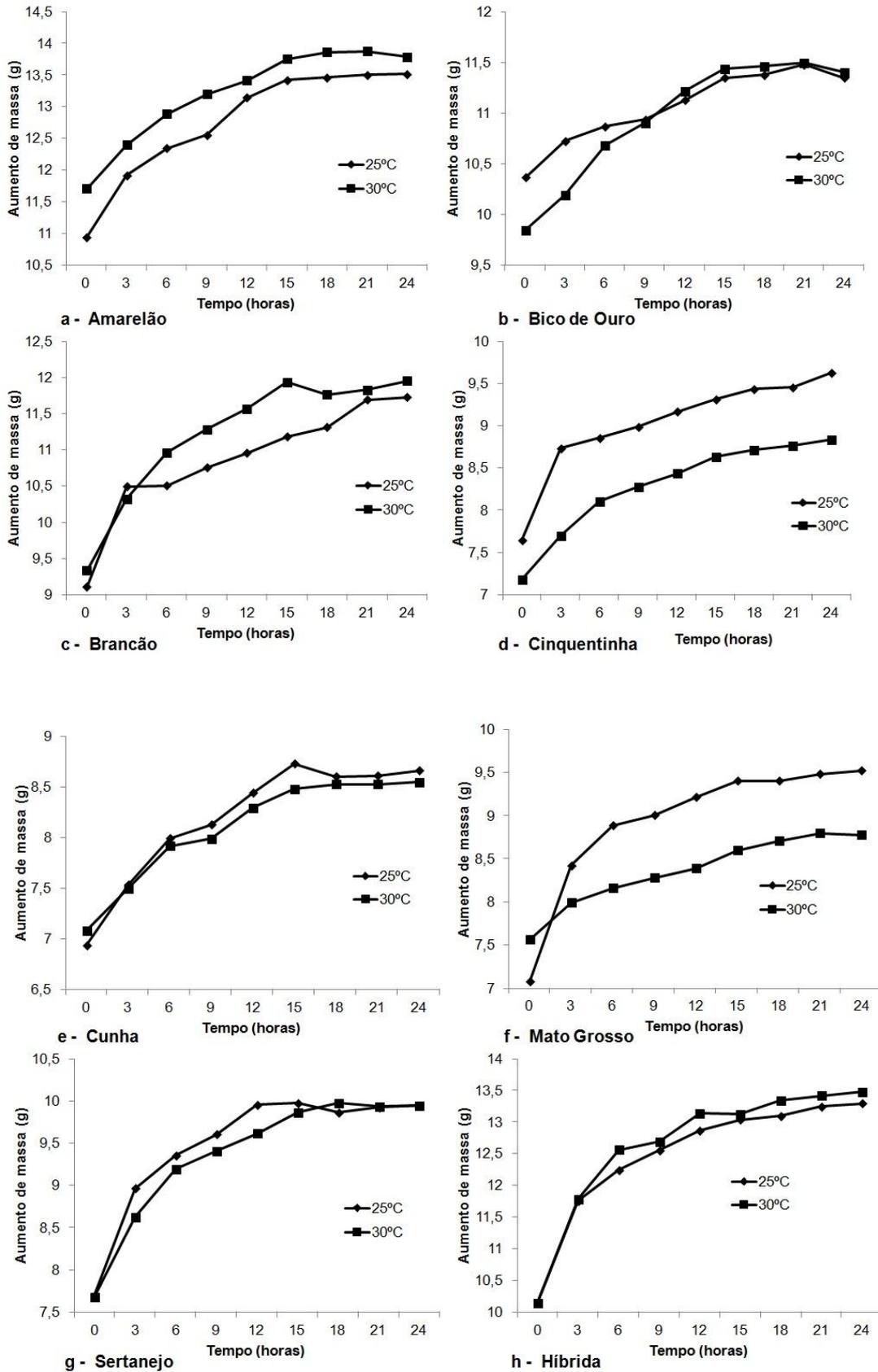


Figura 2 – Absorção de água de sementes das cultivares crioulas e híbrida de milho à temperatura de 25°C e 30°C.

A fase II é a mais longa do processo e a semente absorve água lentamente sendo que o eixo embrionário ainda não consegue crescer. Na fase III acontece novamente elevação no grau de umidade das sementes e observa-se protrusão radicular e crescimento da plântula. Justo et al. (2007) em estudo com sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. definiu que, a espécie, a curva de embebição aproxima-se do modelo trifásico e há um decréscimo da taxa de embebição após a fase I.

Os materiais crioulos, Amarelão e Brancão, apresentaram maior absorção de água na temperatura de 30°C. Já para Cinquentinha e Mato Grosso a maior absorção ocorreu aos 25°C. As demais cultivares, Bico de Ouro, Cunha, Sertanejo e híbrida não apresentaram diferenças quanto a temperatura a avaliação da quantidade de água absorvida. Albuquerque et al. (2009) verificou que a velocidade de embebição de água pelas sementes depende das características que cada espécie apresenta, e entre essas, está a permeabilidade do tegumento. Garcia e Diniz (2003) observaram rápida absorção de água nas primeiras 24 horas de embebição em sementes das espécies *Vellozia gigantea* N.L. Menezes e *Vellozia variabilis* Mart. Ex Schult. Conforme há um aumento de volume pela semente conforme a entrada de água em seu interior, ocorre o rompimento da casca facilitando a emergência do eixo hipocólito radicular (BORGES et al., 2009). Trabalhando com sementes florestais, Rodrigues (1988) destacou que o tempo de absorção de água pelas sementes, para o início do processo germinativo, pode ser mais longo ou mais curto.

4.1.6 Análise sanitária

Os resultados médios da qualidade sanitária de sementes crioulas de milho e testemunha (híbrido) verificados através dos métodos papel filtro e meio BDA (batata-dextrose-ágar) encontram-se na Tabela 6, na qual verificou-se a presença dos fungos *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. Goulart (1994) verificou a incidência de fungos em 57 lotes de sementes de milho BR-201, produzidos na região de Dourados (MS), e como resultados obteve destaque do patógeno *Fusarium moniliforme* associado às sementes, seguido de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. Em outro estudo, com cultivares crioulas de milho (Dente de Ouro

Amarelo, Cateto Amarelo e Sabuguinho), foi verificada alta incidência do gênero *Penicillium* sp, sendo que a cultivar Dente de Ouro Amarelo apresentou um maior percentual quando comparada a Cateto Amarelo (ANTONELLO et al., 2007). Cicero e Silva (2003), concluíram que os prejuízos à qualidade fisiológica de sementes de milho, acarretados por *Aspergillus* spp. e *Fusarium moniliforme* foram maiores que de *Penicillium* spp.

Tabela 6 – Resultados médios da qualidade sanitária de sementes de cultivares crioulas de milho e cultivar híbrida verificadas através do método papel filtro e meio BDA.

Cultivar	<i>Aspergillus</i> spp.		<i>Fusarium</i> spp.		<i>Penicillium</i> spp.	
	Papel filtro	BDA	Papel filtro	BDA	Papel filtro	BDA
Amarelão	1 a	0 b	87 a	16 b	94 a	94 a
CV (%)	>30		24,27		6,85	
Bico de Ouro	0 b	7 a	88 a	87 a	92 a	85 a
CV (%)	>30		8,94		14,04	
Brancão	0 b	3 a	82 b	100 a	81 a	15 b
CV (%)	>30		11,85		>30	
Cinquentinha	0 b	24 a	89 b	99 a	44 b	92 a
CV (%)	>30		11,58		20,55	
Cunha	0 b	5 a	87 b	100 a	90 a	26 b
CV (%)	>30		8,62		18,89	
Mato Grosso	1 b	5 a	96 a	100 a	98 a	6 b
CV (%)	>30		8,92		9,32	
Sertanejo	37 a	7 b	100 a	100 a	100 a	17 b
CV (%)	>30		0,71		13	
Híbrida	0 a	0 a	3 a	2 a	29 a	2 b
CV (%)	0		>30		>30	

*Letras diferentes minúsculas na mesma linha diferem significativamente em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Dilkin et al. (2000) observaram, em milho híbrido recém colhidos, contaminação por *Fusarium* sp. significativamente superior a *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. A cultivar Sertanejo apresentou em torno de 38% de contaminação das sementes por *Aspergillus* spp. através do método do papel filtro, já quando avaliada pelo método BDA, a ocorrência do patógeno foi inferior (7%). Para Cirio e Lima (2003), em estudo com o gênero *Aspergillus* em sementes de milho, através de diferentes meios de avaliação, detectaram que pelo meio ácido de BDA e pelo blotter, as incidências foram de 3,3 % e 5,1 %, não diferindo estatisticamente entre si e apresentaram o meio AST salino (ágar suco de tomate mais 6% de NaCl) como o superior. Os coeficientes de variações (CV%) das análises, em sua maioria, foram superiores a 30% provavelmente pela alta variabilidade existente entre as cultivares, portanto as repetições das análises apresentaram valores discrepantes entre si.

A ocorrência de *Penicillium* spp. no método papel filtro foi mais elevada quando comparada aos resultados em BDA, sendo os valores de todas as cultivares crioulas acima de 80% com exceção da cultivar Cinquentinha (44%). Esse fungo é considerado um dos principais patógenos associados as sementes durante o armazenamento, podendo acarretar prejuízos na semeadura devido ao apodrecimento de sementes (NETTO, 1998).

Com exceção da cultivar Amarelão, a incidência de *Fusarium* spp. no método de avaliação em meio BDA apresentou valores elevados, diferindo estatisticamente de algumas cultivares crioulas quando avaliadas em papel filtro. Fernandes et al. (1990) observaram maior porcentagem total de microorganismos detectados para sementes de quiabeiro avaliadas pelo meio de cultura BDA. Tanaka (2001) avaliou que a sobrevivência de *F. moniliforme* nas sementes de milho conservadas durante 12 meses em câmara fria foi bastante favorecida, em relação ao armazenamento em ambiente não controlado, constatando-se porcentagens de incidência altas em alguns lotes.

Nos dois métodos avaliados a cultivar híbrida apresentou valores significativamente mais baixos de contaminação por *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. quando comparada as cultivares crioulas. Embora não conste nas informações da cultivar, o tratamento de sementes a base de fungicidas, há indícios de que sejam tratadas, e, portanto apresentem baixa associação de patógenos às sementes. Segundo Antonello et al. (2007), as cultivares crioulas de milho apresentam uma baixa qualidade sanitária, alertando-se para a incidência de *Penicillium* sp. Os

autores concluem que isso talvez se deva às condições inadequadas de armazenamento, com alta umidade. Além dos fungos mencionados na Tabela 6, ocorreram também *Rhizopus* spp., quando as sementes foram avaliadas pelo método do papel filtro, e *Trichoderma* spp. pelo método BDA, porém a ocorrência deu-se em poucas amostras e em baixas incidências.

4.2 Avaliações em campo

4.2.1 Emergência em canteiro

Os valores de emergência de plântulas (%) e índice de velocidade de emergência de cultivares crioulas e híbrida de milho encontram-se na Tabela 7. A maioria das cultivares crioulas de milho apresentaram valores acima de 84% de emergência quando cultivadas em ambiente não controlado. A cultivar Sertanejo estabilizou a emergência aos 11 dias em 75% de plântulas emergidas. Sertanejo diferiu estatisticamente da testemunha (cultivar híbrida) pelo teste de Dunnett. Os resultados referentes à emergência em canteiro estão próximos aos resultados de laboratório, no teste de germinação (contagem total), evidenciando que, mesmo sob condições não controladas de temperatura e umidade, a maioria das cultivares crioulas e híbrida de milho não reduziram seu potencial fisiológico.

Tabela 7 – Emergência de Plântulas (%), N° dias após Emergência de plântulas (DAE), Índice de velocidade de emergência (IVE) de cultivares crioulas de milho e comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho).

Cultivares	Emergência (%)	DAE (dias)	IVE
Amarelão	86*	14	2,70 ⁻
Bico de Ouro	88	14	2,59 ⁻
Brancão	86	13	2,69 ⁻
Cinquentinha	86	14	2,68 ⁻
Cunha	86	13	2,80 ⁻
Mato Grosso	84	14	2,64 ⁻
Sertanejo	75 ⁻	11	2,37 ⁻
Testemunha	92	12	3,72
CV(%)	7,7		10,36

+ Significativo e superior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

- Significativo e inferior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

A correlação (negativa) entre a temperatura de 20°C para germinação e emergência, possibilitou verificar que as cultivares Brancão e Sertanejo apresentaram maiores coeficientes, em valores absolutos, com significância a 1% e 5%, respectivamente (Tabelas 8 e 9). As demais cultivares apresentaram correlações não significativas para germinação, emergência de plântulas e IVE (índice de velocidade de emergência). Para Araújo et al. (2011) a correlação entre os dados obtidos com vigor e teste de emergência, provavelmente podem ser utilizados, para classificação de lotes de sementes com diferentes níveis de vigor, proporcional a emergência de plântulas. Para a cultivar Sertanejo houve um decréscimo de emergência nas condições não controladas. Barros e Marcos Filho (1990) constataram informações próximas entre emergência em campo e teste de germinação ao estudar viabilidade de sementes de soja. Segundo Marcos Filho et al. (1987) as condições ambientais do laboratório normalmente conduzem a subestimação dos resultados em campo.

Tabela 8 – Coeficientes de correlação simples (r) entre a germinação das cultivares crioulas de milho Amarelão, Bico de Ouro, Brancão e Cinquentinha nas temperaturas 20°C, 25°C e 30°C com a emergência e índice de velocidade de emergência (IVE) em canteiro. Santa Maria – RS, 2012.

T(°C)	Amarelão		Bico de ouro		Brancão		Cinquentinha	
	E (%)	IVE	E(%)	IVE	E(%)	IVE	E(%)	IVE
20°C	-0,37 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,32 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,99**	0,07 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,78 ^{ns}
25°C	-0,17 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,78 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,64 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,18 ^{ns}
30°C	0,83 ^{ns}	0,9 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,72 ^{ns}	-0,63 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,44 ^{ns}	-0,02 ^{ns}

** significativo ao nível de 1% de probabilidade; * significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns não significativo. T(°C) = temperatura; E(%)= emergência de plântulas; IVE= índice de velocidade de emergência.

Tabela 9 – Coeficientes de correlação simples (r) entre a germinação das cultivares crioulas de milho Cunha, Mato Grosso, Sertanejo e a cultivar Híbrida nas temperaturas 20°C, 25°C e 30°C com a emergência e índice de velocidade de emergência (IVE) em canteiro. Santa Maria – RS, 2012.

T(°C)	Cunha		Mato Grosso		Sertanejo		Híbrida	
	E (%)	IVE	E(%)	IVE	E(%)	IVE	E(%)	IVE
20°C	-0,78 ^{ns}	-0,84 ^{ns}	-0,48 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,93 ^{ns}	-0,96*	0 ^{ns}	0,04 ^{ns}
25°C	-0,29 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,47 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	-0,82 ^{ns}	-0,83 ^{ns}
30°C	-0,2 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,46 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,75 ^{ns}

** significativo ao nível de 1% de probabilidade; * significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns não significativo. T(°C) = temperatura; E(%)= emergência de plântulas; IVE= índice de velocidade de emergência.

Coimbra et. al. (2009) estudando emergência de plântulas de milho-doce em campo não verificaram diferenças estatísticas de vigor entre os lotes de sementes estudados, da mesma forma que a germinação, e isso não permitiu a diferenciação qualitativa dos mesmos. Abreu, Cansi e Juriatti (2007) relataram que de vinte cultivares de sementes crioulas semeadas, apenas seis germinaram razoavelmente, nas demais a germinação não foi suficiente para avaliar a produção. Os autores mencionaram que as cultivares Roxo, Branco e Palha Roxa não diferiram estatisticamente das variedades de milho híbrido na germinação, mostrando-se tão

produtivos quanto os híbridos de alta tecnologia e, possuindo a vantagem dos próprios agricultores poderem produzir suas sementes sem necessidade de dependência da compra das sementes.

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi de 2,37 (Sertanejo) a 2,80 (Cunha) entre as cultivares crioulas de milho. Houve diferença significativa dos materiais crioulos quando comparados a testemunha (material híbrido) pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, sendo que o maior valor foi de 3,72 pela testemunha. Segundo Bahry, Muniz e Franzin (2006), a velocidade de formação de plântulas é importante na avaliação das sementes, uma vez que maior velocidade indica maior vigor e menor o tempo de exposição aos patógenos, agentes da deterioração das sementes. Toledo et al. (1999) avaliando vigor de sementes de milho pelos métodos tradicionais como primeira contagem e emergência de plântulas em campo indicou, de maneira geral, a superioridade de alguns lotes de sementes. A altura de plantas diferiu estatisticamente entre as cultivares crioulas e a testemunha (híbrida de milho), sendo que os maiores valores foram encontrados pela testemunha nos três tempos medidos (Tabela 10).

Tabela 10 – Altura Planta aos 15, 20 e 23 dias, Massa fresca e seca de cultivares crioulas de milho comparadas a testemunha (cultivar híbrida de milho).

Cultivares	Altura planta (cm)			M. Fresca (g)	M. Seca (g)
	15 dias	20 dias	23 dias		
Amarelão	23,89 ^{-*}	38,85 ⁻	55,64 ⁻	152,07	13,72 ⁻
Bico de Ouro	21,0 ⁻	39,48 ⁻	55,74 ⁻	178,68	15,30 ⁻
Brancão	21,80 ⁻	38,71 ⁻	56,56 ⁻	149,13	12,93 ⁻
Cinquentinha	21,37 ⁻	37,63 ⁻	54,37 ⁻	129,98 ⁻	11,14 ⁻
Cunha	23,46 ⁻	39,99	58,75 ⁻	153,73	13,43 ⁻
Mato Grosso	21,83 ⁻	36,44 ⁻	57,52 ⁻	150,70 ⁻	12,74 ⁻
Sertanejo	23,06 ⁻	39,49 ⁻	56,42 ⁻	148,78	13,99 ⁻
Testemunha	30,24	47,61	69,85	190,00	25,10
CV(%)	7,43	9,82	8,33	24,39	19,97

+ Significativo e superior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

- Significativo e inferior à testemunha, pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade;

A altura mínima encontrada entre os materiais crioulos aos 23 dias foi de 54,37 cm (Cinquentinha) e a máxima de 58,75 cm (Cunha), já a testemunha foi de 69,85 cm. Bahry et al. (2007) ao medir a estatura de plântulas de milho aos 14 e 21 dias, no teste de emergência, constataram que não houve diferença entre os lotes, concluindo que o teste não é sensível para detecção de diferenças de vigor de lotes. Somente as cultivares Cinquentinha e Mato Grosso diferiram da testemunha com relação a massa fresca, sendo que a testemunha apresentou maior valor. Já para massa seca houve diferença de todas as cultivares crioulas quando comparadas à testemunha.

Em avaliação a qualidade fisiológica de milho, Aguilera et al. (2002) observaram que a matéria seca de plântulas não foi o teste mais adequado para avaliação da qualidade fisiológica de sementes.

4.3 Avaliação do ponto ideal de colheita das sementes

Nas tabelas 11, 12 e 13, encontram-se os valores médios obtidos na avaliação da qualidade fisiológica das sementes das cultivares crioulas de milho Amarelão, Bico de Ouro e Cinquentinha. As análises foram realizadas nos quatro pontos de colheita das sementes e realizou-se teste de germinação, primeira contagem de germinação e frio (plântulas normais, anormais, sementes mortas) em cada estágio.

Os testes relacionados à germinação, primeira contagem de germinação e frio diferiram estatisticamente quanto ao ponto de colheita, sendo que a maior qualidade fisiológica é verificada no ponto quatro (umidade das sementes entre 20% e 30%). A colheita das sementes se deu em intervalos irregulares, sendo realizadas através de inspeções visuais diárias, pois segundo Araújo e Nass (2002), à maturação das sementes crioulas de milho é desuniforme, devido as cultivares possuírem alta variabilidade genética. Segundo Teixeira (2010) os indicadores visuais da maturidade são, muitas vezes, definidos a partir de mudanças na coloração ou características apresentadas pelas sementes.

A germinação obtida na primeira colheita (umidade de 45% a 50%) apresentou valores abaixo dos padrões exigidos pela legislação (acima de 80%) e

quando avaliada no ponto quatro, a germinação foi acima de 90% para as cultivares. Em estudo com linhagens de milho, Fessel et al. (2001), avaliando o vigor de sementes através do teste de envelhecimento acelerado, atestaram que a menor germinação foi obtida na primeira colheita quando as sementes apresentavam alto conteúdo de umidade (umidade de 53%). Esses mesmos autores concluíram que as sementes devem ser colhidas a partir de 72 dias de florescimento (sementes com média de 31% de teor de água) para não sofrer com perdas na qualidade fisiológica. No mesmo trabalho, avaliando um híbrido simples, os autores verificaram, através do teste de frio que tanto a primeira (umidade média de 53%) quanto a última época de colheita (umidade média de 9%) causaram redução significativa na germinação das sementes. De acordo com os dados apresentados nas tabelas abaixo, as sementes com umidade abaixo de 30% possuem alta qualidade fisiológica diferindo dos resultados obtidos para as linhagens de milho obtidas por Fessel et al. (2001). Esse autor ainda ressalta que para o genótipo HS, os melhores resultados encontrados para os testes de germinação e de vigor ocorreram entre 80 e 88 dias após o florescimento, momento em que as sementes estavam com um conteúdo de água entre 19,5% a 15,8%. Para Faria et al. (2002), as maiores porcentagens de germinação e vigor, em híbridos de milho, foram observadas em colheitas de sementes a partir do estágio três de linha de leite (50% do endosperma sólido; linha de leite localizada no meio da semente). Em estudo com sementes de milho Vieira et al. (1995) concluíram que a colheita pode ser realizada entre os estádios três e quatro de linha de leite (estádio 3 - 50% do endosperma sólido; estágio 4 - 75% do endosperma solidificado) sem perda de qualidade fisiológica. Carvalho e Nakagawa (2000) citam que embora as sementes não se encontrem totalmente maduras, elas podem germinar, porém as plântulas originadas não possuem o mesmo vigor das sementes colhidas no ponto de maturidade fisiológica. Borges, Borges e Teles (1980), averiguaram que em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* o teor de água encontrava-se em média 22% coincidindo com a máxima porcentagem de germinação. O grau de umidade das sementes é influenciado por fatores genéticos e ambientais, e ainda que seja amplamente utilizado, não é considerado ideal como indicador da maturidade fisiológica (ARAÚJO et al., 2006).

Tabela 11 – Resultados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes da cultivar Amarelão em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – 2012 – RS.

PC	Teste de Germinação				Teste de Frio		
	GT(%)	PCG (%)	PA (%)	SM (%)	PN (%)	PA (%)	SM (%)
1	42 c*	34 c	22 a	23 a	23 c	26 a	50 a
2	69 b	60 b	13 ab	9 b	84 b	12 b	3 b
3	81 ab	70 ab	12 ab	3 bc	91 ab	3 c	3 b
4	95 a	82 a	4 b	1 c	96 a	3 c	1 b
CV(%)	9,93	11,19	>30	>30	5,53	>30	23,16

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. PC= Ponto de Colheita; GT= Germinação Total; PCG= Primeira Contagem de Germinação; PA= Plântulas Anormais; SM= Sementes Mortas; PN= Plântulas Normais.

Tabela 12 – Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes da cultivar Bico de Ouro em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – 2012 – RS.

PC	Teste de Germinação				Teste de Frio		
	GT (%)	PCG (%)	PA (%)	SM (%)	PN (%)	PA (%)	SM (%)
1	61 c*	42 c	21 a	12 a	89 ab	8 a	2 a
2	87 ab	69 b	8 bc	1 a	87 b	9 a	2 a
3	75 bc	32 c	18 ab	2 a	85 b	8 a	4 a
4	96 a	93 a	2 c	1 a	96 a	3 a	1 a
CV(%)	8,62	15,44	>30	>30	4,33	>30	>30

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. PC= Ponto de Colheita; GT= Germinação Total; PCG= Primeira Contagem de Germinação; PA= Plântulas Anormais; SM= Sementes Mortas; PN= Plântulas Normais.

Tabela 13 – Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes da cultivar Cinquentinha em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – 2012 – RS.

PC	Teste de Germinação				Teste de Frio		
	GT (%)	PCG (%)	PA (%)	SM (%)	PN (%)	PA (%)	SM (%)
1	63 c*	4 c	22 a	13 a	96 a	3 b	1 a
2	87 ab	59 b	8 b	4 b	84 b	10 a	2 a
3	79 b	40 c	5 b	9 ab	96 a	1 b	1 a
4	95 a	83 a	2 b	5 b	93 a	1 b	5 a
CV(%)	7,57	15,09	>30	>30	4,21	>30	>30

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. PC= Ponto de Colheita; GT= Germinação Total; PCG= Primeira Contagem de Germinação; PA= Plântulas Anormais; SM= Sementes Mortas; PN= Plântulas Normais.

Segundo Villela e Marcos Filho (1998), as modificações no teor de água das sementes são características eficientes no estudo do desenvolvimento das mesmas, e podem ser utilizadas para determinar a maturação fisiológica. Dados obtidos com o teste de primeira contagem de germinação apontam valores acima de 90% de plântulas normais no ponto de colheita quatro, momento em que o endosperma está totalmente solidificado, e nas demais colheitas com maior umidade e menor solidificação do endosperma, um decréscimo de germinação. A indicação do ponto de colheita, contemplando a alta qualidade fisiológica das sementes, pode ser realizado a partir da linha de leite (solidificação do endosperma), sem a necessidade de determinar o teor de água das sementes (FESSEL et al. 2001). Verificou-se diminuição de plântulas anormais conforme diminuição do grau de umidade, o mesmo ocorreu com as sementes mortas. Jalink et al. (1998) destacaram o período da maturidade como um indispensável aspecto da qualidade de sementes, em contrapartida, as imaturas ou não totalmente maduras podem apresentar menor qualidade que as sementes maduras. Já Conceição et al. (2012) em estudo com milho afirmaram que devido a demora da colheita das sementes, ocorreu diminuição da porcentagem de plântulas normais obtidas através dos testes de germinação, envelhecimento acelerado e velocidade de emergência das plântulas. Garcia et al. (2004) sugerem ser preferível realizar a colheita das sementes no momento em que atingirem o ponto de maturidade fisiológica, embora, nesta ocasião, as sementes

possuam alto grau de umidade. Os autores citam que o período de secagem das sementes pode contribuir para preservação da qualidade fisiológica durante o armazenamento. As sementes, posteriormente a maturidade fisiológica, passam a sofrer alterações degenerativas, comprometendo sua qualidade fisiológica, conforme as condições ambientais em que são expostas (DELOUCHE e BASKIN, 1973; MCDONALD, 1975). Borba, Andrade e Azevedo (1995) em trabalho com híbrido simples de milho, sugeriram antecipar a colheita em 14 dias antes da maturidade fisiológica, pois nesse período as sementes apresentaram altas taxas de vigor. Com relação aos materiais crioulos, por esses apresentarem alta variabilidade genética, uma mesma cultivar pode se encontrar em diferentes estádios de maturação ao mesmo tempo, portanto torna-se inviável antecipar a colheita para estádios que apresentam menor porcentagem de solidificação do endosperma. Dessa forma, para a colheita ser uniforme, com relação a maturação das sementes, deve-se realizar a mesma quando o teor de endosperma estiver totalmente solidificado em toda a lavoura.

Para cultivar Amarelão, os dados do teste de frio, obtidos da primeira colheita realizada, apresentaram baixa viabilidade das sementes, com alto número de sementes mortas (50%) e à medida que ocorreu um decréscimo do grau de umidade aumentou a viabilidade das sementes, chegando a 96% de plântulas normais e menos de 1% de sementes mortas. As sementes foram colhidas e secadas ao sol, conforme a real condição dos pequenos produtores rurais, sendo esse processo natural de secagem lento, talvez possa interferir na qualidade fisiológica das sementes. Faria et al. (2002) ressaltaram, em trabalho com cultivares híbridas de milho, que sementes colhidas com altos teores de água, após a secagem, podem apresentar percentuais de germinação semelhantes aos das colhidas com menores teores de água. Os autores ressaltam que no processo de secagem as sementes foram expostas à temperatura inicial de 35°C, até atingir 20% de teor de água, seguida de temperatura de 42°C até 12% de teor de água.

Bico de Ouro obteve resultados acima de 85% de plântulas normais, avaliadas pelo teste de frio em todas as colheitas. Não houve diferença significativa entre a primeira e a última colheita com relação às variáveis analisadas pelo teste. Cinquentinha diferiu estatisticamente no teste de frio entre os estádios de maturação, sendo que o estágio dois diferiu dos demais quanto as plântulas

normais, e a porcentagem de plântulas anormais e sementes mortas nos outros estádios foi abaixo de 5%.

Na tabela 14, encontram-se os valores médios obtidos na avaliação da qualidade sanitária das sementes das cultivares crioulas de milho Amarelão, Bico de Ouro e Cinquentinha.

Tabela 14 – Incidência de fungos associados a sementes crioulas de milho avaliadas em diferentes pontos de colheita. Santa Maria – RS, 2012.

PC	Amarelão			Bico de Ouro			Cinquentinha		
	Asp.	Fus.	Penic.	Asp.	Fus.	Penic.	Asp.	Fus.	Penic.
1	4 a*	99 a	0 a	4 b	100 a	15 c	11 ab	87 a	75 a
2	1 a	99 a	0 a	21 a	92 b	90 a	26 a	95 a	48 b
3	0 a	100 a	0 a	0 b	98 ab	77 b	6 b	100 a	29 c
4	0 a	100 a	3 a	2 b	97 ab	99 a	1 b	100 a	40 ab
CV(%)	>30	0,77	>30	>30	3,34	8,01	>30	13,25	17,03

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. PC= Ponto de Colheita; Asp.= *Aspergillus* spp.; Fus.= *Fusarium* spp.; Penic.= *Penicillium* spp.

O teste de sanidade apresentou fungos associados as sementes nas três cultivares e em todos os estádios de maturação. Amarelão e Cinquentinha apresentaram altos índices de *Fusarium* spp. em todas as colheitas, não diferindo estatisticamente entre os períodos de maturação. Bico de Ouro apresentou maiores índices na primeira colheita havendo distinção da segunda colheita (35 a 40% de umidade). Henning et al. (2011) relataram maior incidência de fungos associados as sementes de milho provenientes das primeiras épocas de colheita e redução no momento que as sementes atingiram o ponto de maturidade fisiológica. Para Bankole e Adebajo (2003), a antecipação das colheitas pode ocasionar reduções de contaminação das sementes por micotoxinas e aflatoxinas. *Aspergillus* sp., nas três cultivares avaliadas, ocorreu em maior porcentagem nas primeiras épocas de colheita diminuindo conforme diminuição do grau de umidade. Segundo Yorinori (1982) elevadas porcentagens de fungos associadas as sementes estão

relacionados a menores taxas de germinação e desenvolvimento de plântulas nos seus estádios iniciais. A cultivar Amarelão apresentou baixa contaminação por *Penicillium* spp., já Bico de Ouro teve um aumento de contaminação na última colheita chegando ao máximo 99% das sementes avaliadas e Cinquentinha comportou-se diferentemente, na última colheita ocorreu menor associação do patógeno as sementes (40,5%) quando comparada a primeira colheita (75,5%).

Segundo estudos realizados por Menezes (1988), a contaminação de sementes por *Fusarium* sp. pode ocasionar prejuízos a emergência, germinação e produção, podendo ocorrer disseminação do patógeno a campo pelas sementes. Cícero e Silva (2003) averiguaram que *Fusarium* sp. associado a sementes de milho, causam danos qualitativos que aumentam à medida que se aproximam do embrião. Casa et al. (1995), afirmam que *Fusarium moliniforme* pode ser considerado como, responsável pela redução da germinação e emergência de plântulas de milho, aumentando os riscos em condições adversas.

Os resultados apresentados na Tabela 14 mostram que, a incidência de *Fusarium* spp. pelas sementes entre as cultivares, em todos períodos de maturação, são expressivas, isto é, acima de 85% chegando a 100%, porém a germinação (Tabelas 11, 12 e 13), não foi prejudicada. Em trabalho com sementes de mamona foi verificado que a incidência de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. não prejudicou o potencial de germinação das sementes, porém pode ocasionar redução da emergência de plântulas em condições adversas de temperatura (PEREIRA, MEDINA e PARISI, 2011). Autores como Bedendo e Cardoso (1987) afirmam que o patógeno *Fusarium* sp. associado as sementes de milho, não afeta a qualidade fisiológica das mesmas. Em avaliação da incidência de patógenos nas sementes de milho e a relação com a qualidade fisiológica, Peixoto et al. (1998), verificou que embora a incidência de patógenos fosse de 38% para *F. moniliforme*, 29% para *Aspergillus niger*, e 24% para *Penicillium* sp., o vigor das sementes de milho não foi alterado. Em concordância com as informações, Von Pinho et al. (1995) concluíram, em sementes de milho, que *F. moniliforme* não afetou a germinação, o vigor e emergência de plântulas.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se chegar as seguintes conclusões:

- a temperatura de 25°C com contagens aos seis dias, são as condições que melhor representam a germinação das sementes de cultivares crioulas de milho;
- os métodos de avaliação da qualidade sanitária não apresentaram diferenças significativas entre si, porém a metodologia através do “papel filtro” é mais adequada pois é mais rápida e de fácil execução;
- a cultivar Amarelão pode ser semeada em condições de frio, pois pode suportar temperaturas abaixo de 0°C sem sofrer interferência em relação a germinação e vigor de plântulas;
- para as cultivares crioulas o teste de tetrazólio pode ser realizado com menor concentração de sal de tetrazólio (0,07%);
- cultivares crioulas de milho apresentam elevada incidência de patógenos associadas as suas sementes, porém a ocorrência de *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. não causa prejuízos na qualidade fisiológica das sementes;
- o ponto ideal de colheita para sementes de milho crioulo é quando a umidade está na faixa de 20% a 30%, apresentando nesse período, maiores valores de germinação e vigor de sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.; CANSI, E.; JURIATTI, C. Avaliação do rendimento sócio-econômico de variedades crioulas e híbridos comerciais de milho na microregião de Chapecó. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 1230-1233, 2007.

AGUIAR, I.B.; PERECIN, D.; KAGEYAMA, P.Y. Maturação fisiológica de sementes de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **IPEF**, Piracicaba, v. 38, p. 41- 49, 1988.

AGUILERA, L.A. et al. Testes para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milheto. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 2, p. 108-112, 2002.

ALBUQUERQUE, K.S. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, 2009.

AMARAL, A.S.; PESKE, S.T. pH do exudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 6, n. 3, p. 85-92, 1984.

ANTONELLO, L.M. Situação sanitária de sementes de milho crioulo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 1212-1215, 2007.

ARAUJO, R.F. et al. O teste de tetrazólio em camada de aleurona na avaliação da qualidade de sementes de milho danificadas durante a colheita e durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 104-109, 2000.

ARAUJO, P.M.; NASS, L.L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 589-593, jul./set. 2002.

ARAUJO, E.F. et al. Maturação de sementes de milho-doce – grupo Super Doce. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 69-76, 2006.

ARAÚJO, R. F. et al. Teste de condutividade elétrica para sementes de feijão-mungo-verde. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 1 p. 123 - 130, 2011.

BANKOLE, S. A.; ADEBANJO, A. Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 9, p. 254-263, 2003.

BARROS, A.S.R. **Testes para avaliação rápida da viabilidade e do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Piracicaba SALQ, 1988. 140p. (Dissertação Mestrado).

BARROS, A.S. do R. e MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida da viabilidade de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 10, n. 25, p. 1447- 1459, 1990.

BARROS, I.B. et al. Comparação entre testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 12-16, 2002.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218 p.

BAHRY, C.A. et al. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de milho. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 14, n. 1, p. 25-35, 2007.

BAHRY, C.A.; MUNIZ, M.F.B.; FRANZIN, S.M. **Importância da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de milho para a implantação de pastagens**. Santa Maria: CCR/UFMS, 2006. 4p. (Informe Técnico).

BEDENDO, I. P.; CARDOSO, C. O. N. Incidência de *Fusarium moniliforme* em sementes de diferentes cultivares de milho e seu efeito na germinação. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.13, n. 3-4, p. 210-221, 1987.

BEVILAQUA, G.I.A. et al. Desenvolvimento *in situ* de Cultivares Crioulas através de Agricultores Guardiões de Sementes. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio Grande do Sul, v. 4 n. 2, 2009.

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

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

BORBA, C.S. et al. Germinação de sementes de diversos genótipos de milho tropical (*Zea mays* L.) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 2, p. 141-144, 1995.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B. et al. (Eds.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, p. 83-135, 1993.

BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; TELES, F.F.F. Avaliação da maturação e dormência de sementes de orelha-de-negro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 29-32, 1980.

BORGES, R.C.F. et al. Caracterização da curva de embebição de sementes de pinhão manso. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, ano VIII, fev. de 2009.

BRAND, S.C., et al. Qualidade Fisiológica de sementes de milho crioulo. In: XVI Congresso de Iniciação Científica, 2007. **Anais...** Faculdade de Agronomia Eliseo Maciel, 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 399p, 2009.

CALLEGARO, M.G.K. et al. Determinação da fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados do milho. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 271-274, abr-jun, 2005.

CAMPOS, S.R.F. et al. Aspectos legais da produção e da comercialização de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 15-21, 2006.

CARNEIRO, J.W.P et al. Massa de água acumulada durante a embebição de sementes de cenoura (*daucus carota* L.): avaliação de modelos lineares e não lineares. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 9-16, 2001.

CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. 326 p.

CARVALHO, N.M. Vigor de sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. (Coord.). **Atualização em produção de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 207-223.

CARVALHO, N.M; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: Funep, 588p, 2000.

CARVALHO, N.M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 1-30.

CASA, R. T. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas na proteção contra fungos do solo, no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 633-638, 1995.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 51-67, 2004.

CATÃO, H.C.R.M. et al. **Qualidade fisiológica de sementes de milho crioulo cultivadas no norte de Minas Gerais**. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. CD-Rom.

CATÃO, H. C. R. M. et al. Qualidade sanitária de sementes de milho crioulo (*Zea mays* L.) produzidas no município de Porteirinha-MG. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 253-6, 2007.

CECCARELLI, S. Specific adaptation and breeding for marginal conditions. **Euphytica**, v. 77, n. 3, p. 205-219, 1994.

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

CIRIO, G.M; LIMA, M.L.R.Z.C. Métodos de detecção do gênero *aspergillus* em sementes de milho (*Zea mays* L.) em 270 dias de armazenamento. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 19-23, Jan.-Jun. 2003.

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

COIMBRA, R.A. et al. Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (*sh2*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2402-2408, dez. 2009.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira: grãos, primeiro levantamento**, Brasília, out., 2012. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_12_06_09_10_01_boletim_portugues_dezembro_2012.pdf>. Acesso: 20 nov. 2012.

CONCEIÇÃO, P.M. et al. Estimativa do vigor de sementes de milho através da avaliação do sistema radicular de plântulas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 600-606, abr. 2012.

CUSTÓDIO, C.C. Testes rápidos para avaliação do vigor de sementes: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v. 1, n. 1, p. 29-41, set. 2005.

DAVID, A.M.S.S. et al. Maturação de sementes de milho-pipoca. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 3, p. 121-131, 2002.

DELOUCHE, J.C. et al. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976.

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

DELOUCHE, J.C. Germinação, Deterioração e Vigor da Semente. **Revista Seed News**, v. 6 n. 6, p. 45-48, 2002.

DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1995. 43p. (Circular, 88).

DIAS, D.C.F. Maturação de sementes. **Seed News**, Pelotas, v. 5, n. 6, p. 22-24, 2001.

DILKIN, P. et al. Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de aflatoxinas em híbridos de milho. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 137-141, 2000.

DURÃES, F. M. et al. Índices de vigor de sementes de milho (*Zea mays* L.) associados com emergência no campo e rendimento de grãos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 4, Fortaleza, 1993. Resumos. Fortaleza, SBFV; UFCE, 1993. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 1, p. 90, 1993.

EMBRAPA. **Cultivo do milho.** Sistemas de Produção, 2 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 5ª edição, Set./2009. Disponível em http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_5ed/index.htm. Acesso dia 15 jan 2012.

FARIA, M.A.V.R., et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho colhidas em diferentes estádios de “linha de leite”. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.1, p. 93-104, 2002.

FARIA, M.A.V.R., et al. Qualidade de sementes de milho colhidas em diferentes estádios de maturação em duas épocas de produção. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 293-304, 2005.

FERNANDES, M.C.A, et al. Estudos preliminares sobre sanidade de sementes de quiabeiro procedentes de alguns municípios do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 12, n. 2, p. 37-43, 1990.

FERNANDES, E.J.; SADER, R.; CARVALHO, N.M. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo pH do exsudato. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5, Gramado, 1987. **Anais...** Brasília: ABRATES, 1987. p. 80.

FERREIRA, D.F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados.** Lavras: UFLA, 2000.

FESSEL, S.A. et al. Maturidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p.191-197, 2001.

FOGAÇA, C.A. et al. Teste de tetrazólio em sementes de *Sorghum bicolor* L. – Poaceae. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 1, set. 2011.

GARCIA, D.C. et al. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 603-608, 2004.

GARCIA, Q.S.; DINIZ, I.S.S. Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da Serra do Cipó. **Acta Botânica Brasílica**, v. 17, n. 4, p. 487-494, 2003.

GOULART, A.C.P. Qualidade sanitária de sementes de milho BR- 201 produzidas na região de Dourados, MS, no ano de 1993. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 4, n. 3, p. 53-55, 1994.

GRABE, D.F. Measurement of seed vigor. **Journal Seed Technology**, v. 11, p. 18-32, 1976.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa University Press, 1988. 468 p.

HAMPTON, J.G. O que é qualidade de sementes? **Revista SEED News**. Pelotas, v. 5, n. 5, set. out., 2001.

HENNING, F.A., et al. Qualidade sanitária de sementes de milho em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33 n. 2, 2011.

HUNTER, J.L. et al. Corn seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilate. **Crop Science**, v. 31, n. 5, p. 1309-1313, 1991.

YORINORI, J.T. Doenças da soja causadas por fungos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 94, p. 40-46, 1982.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rules for Seed Testing. **Seed Science e Technology**, 21, Supplement, 1993. 288 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo 2010**. Disponível em < <http://www.informacoesdobrasil.com.br/dados/rio-grande-do-sul/ibarama/censo-demografico-2010/>> Acesso em: 26 out. 2012.

IPEF. **Informativo sementes IPEF – Abril/98**. 1999. 2 p. Disponível em: <<http://www.ipef.br/especies/germinacaoambiental.html>>. Acesso em: 21 nov. 1999.

JALINK, H. et al. Chlorophyll fluorescence of *Brassica oleracea* seeds as a non-destructive marker for seed maturity and seed performance. **Seed Science Research**, New York, v. 8, n. 4, p. 437-443, 1998.

JUSTO, C.F. et al. Composição Química, Curva de Embebição e Efeito da Temperatura sobre a Germinação de Sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 510-512, jul. 2007.

LACERDA, A.L.S. Fatores que afetam a maturação e qualidade fisiológica das sementes de soja (*Glycine max* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, p. 132-137, 2007.

LOEFFLER, T.M.; MEYER, J.L.; BURRIS, J.S. Comparison of two test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, v. 13, p. 653-658, 1985.

LOUETTE, D. et al. In situ conservation of maize in Mexico: genetic diversity and maize seed management in a traditional community. **Economic Botany**, St. Louis, v. 51, n. 1, p. 20-38, 1997.

LUCCA FILHO, O.A. Testes de sanidade de sementes de milho. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. da S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill/ABRATES-COPASEM, 1987. p. 430-440.

LUCCA FILHO, O.A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 276-298.

LUCCA FILHO, O.A. et. al. Fungos em sementes de azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 142-147, 1999.

MACHADO, J.C. et al. Use of osmotic solutes to control seed germination of rice and common bean in seed health blotter tests. **Seed Science and Technology**, v.36, p.66-75, 2008.

MAGUIRE, J.D. Spread of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. et al. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.

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

McDONALD, M.B.Jr. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lansing, v. 65, p. 109-139, 1975.

MENDES, A.M.S. et al. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae – Mimosoideae). **Acta Amazônica**, v. 39, n. 4, p. 823 – 828, 2009.

MENEGUETTI, G.A.; GIRARDI, J.L.; REGINATTO, J.C. Milho crioulo: tecnologia viável e sustentável (Relato de Experiência – Emater, RS). **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 3, n. 1, p. 12-17, 2002.

MENEZES, M. Aspectos diagnósticos na detecção de *Fusarium* sp. em sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 3, 1988. Lavras, **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1988, p. 140-156.

MIGUEL, M.H.; CÍCERO, S.M. Teste de frio na avaliação do vigor de sementes de feijão. **Sciencia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, 1999.

MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1961. 42 p.

MOTTA, I.S., et al. Época de semeadura em cinco cultivares de soja. II. Efeito na qualidade fisiológica das sementes. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 24, n. 5, p. 1281-1286, 2002.

MUNIZ, M.F.B. et al. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 2, p. 144-149, 2004.

NAVES, M.M.V. et al. Avaliação química e biológica da proteína do grão em cultivares de milho de alta qualidade protéica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, n. 1, p. 1-8, 2004.

NERY, M.C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 365-372, jul./set. 2007.

NETTO, D.M. et al. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de sorgo danificadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 134-140, 1998.

NOVEMBRE, A.D.L.C. **Estudo da metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) deslindadas mecanicamente**. 1994. 133 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

PATERNIANI, E. et al. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C.W.; DUARTE, W. (Org). **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo 15, 2000. Cap. 1, p.11-14.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. **Melhoramento do milho**. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa, [s.n.], p. 429-485, 1999.

PEIXOTO, R.S.; TORRES, S.B.; KARASAWA, M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho produzidas no sub-médio São Francisco. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 12-15, 1998.

PEREIRA, S.F. et al. Caracterização de cultivares crioulas de milho no cultivo orgânico no município de Marechal Cândido Rondon – Paraná. **Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC - Florianópolis, SC - Julho/2006**.

PEREIRA, L.A.; MEDINA, P.F.; PARISI, J.J.D. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de mamona (*Ricinus comunis*) colhidas em diferentes épocas e armazenadas por vinte meses. **5º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica**, Campinas, 2011.

PESKE, S.T.; AMARAL, A.S. pH of seed exudate as a rapid physiological quality test. **Seed Science & Technology**, Zürich, v. 22, n. 3, p. 641-644, 1994.

PESKE, S.T.; AMARAL, S. Prediction of the germination os soybean seeds by measuremen of the pH of seed exudates. **Seed Science & Tecnology**, New Delhi. v.14, n.1, p. 151-156. 1986.

PONS, A.; BRESOLIN, M. A cultura do milho. **Trigo e Soja**. Porto Alegre, n. 57, p. 6-31, 1981.

QUEIROGA, V.P.; DURAN, J.M. Análise da qualidade fisiológica em sementes de girassol com e sem pericarpos. **Anais: Congresso brasileiro de mamona, 4 e Simpósio internacional de oleaginosas energéticas**, 1, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: **Anais...** Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1944-1950.

REINIGER, L. et al. Ações de extensão, ensino e pesquisa relacionadas às cultivares de milho crioulo realizadas pela Associação dos Guardiões de Sementes Crioulas de Ibarama – RS, EMATER e UFSM. In: Resumos do VII Congresso

Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE. **Cadernos de Agroecologia** – ISSN 2236-7934 – v. 6, n. 2, dez. 2011.

REIS, E.M. et al. Comparison of methods to detect leaf and head blighting fungi in small grain seeds. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 25, n. 4, p. 364-367, 1999.

RODRIGUES, F.C.M.P. **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 100 p.

ROMANO, M.R.; VERBURG, N.; J.M.; ROCHA, C.H. Desempenho de cinco variedades de milho crioulo em diferentes sistemas de produção. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 808-811, 2007.

SANTANA, D.C. et al. Teste do pH do exsudato-fenolftaleína para rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, p. 160-166, 1998.

SHURTLEFF, M.C. **A compendium of corn diseases**. 2.ed. St. Paul: APS/University of Illinois, 1986. 105 p.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.

SMIDERLE, O.J.; CÍCERO, S.M. Tratamento inseticida e qualidade de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 462-469, 1998.

SPINA, A.A.T.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor para selecionar lotes de amendoim antes do beneficiamento. **Ciência Agrônômica**, Jaboticabal. v. 1, n. 1, p. 10, 1986.

TANAKA, M.A.S. Sobrevivência de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho mantidas em duas condições de armazenamento. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 1, 2001.

TEIXEIRA, R.N. **Teor de clorofila, danos oxidativos e qualidade de sementes de soja**. 2010. 100 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu,SP.

TEIXEIRA, F.F. et al. Diversidade no germoplasma de milho coletado na região nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 59-67, 2002.

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

TERRA, T.F. **Variabilidade genética em populações de teosinto (*Zea mays* subsp. *mexicana*) visando à contribuição para o melhoramento genético do milho (*Zea mays* subsp. *mays*)**. 2009. 175 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

TOLEDO, F.F. et al. Vigor de sementes de milho (*Zea mays* L.) avaliado pela precocidade de emissão da raiz primária. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, 1999.

VALADARES, S.V. et al, 2007. Qualidade física de sementes de diferentes variedades de milho crioulo, produzidas em Porteirinha, norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Minas Gerais, v. 2 n. 2, 2007.

VIEIRA, R.D. et al. Relationship of black layer and milk line development on maize seed maturity. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n.1, p.142-147, 1995.

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**, vol. 25, n. 1, p. 95-100, 2003.

VILLELA, F.A.; MARCOS-FILHO, J. Estados energéticos e tipos de água na semente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 20, n. 2, p. 317-321, 1998.

VON PINHO, E.V.R. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.1, p.23-28, 1995.

WASSINK, H., HOEFMAN, R. De factor van de ligging. **Boerdery**, v. 77, n. 25, p. 27, 1992.

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

ANEXOS

Anexo 1- Meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA)

- 200 g de batatas descascadas e fatiadas;
- 20 g de dextrose;
- 15 g de ágar;
- 1 L de água destilada;
- 0,05 mg de estreptomicina/100 mL de meio de cultura.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434 p.