

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes



Tese

Metodologia alternativa para o teste de frio em sementes de milho

Fernanda Sedrez Marques

Pelotas, 2023

Fernanda Sedrez Marques

Metodologia alternativa para o teste de frio em sementes de milho

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências (área do conhecimento: Ciência e Tecnologia de Sementes).

Orientadora: Prof. Dra. Andréia da Silva Almeida
Coorientadora: Dra. Andréa Bicca Noguez Martins

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M357m Marques, Fernanda Sedrez

Metodologia alternativa para o teste de frio em sementes de milho / Fernanda Sedrez Marques ; Andreia da Silva Almeida, orientadora ; Andréa Bicca Noguez Martins, coorientadora. — Pelotas, 2023.

46 f.

Tese (Doutorado) — Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Baixas temperaturas. 2. Vigor. 3. *Zea mays* L. 4. Substrato. I. Almeida, Andreia da Silva, orient. II. Martins, Andréa Bicca Noguez, coorient. III. Título.

CDD : 633.15

Elaborada por Maria Beatriz Vaghetti Vieira CRB: 10/1032

Fernanda Sedrez Marques

Metodologia alternativa para o teste de frio em sementes de milho

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 21/08/2023

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Andréia da Silva Almeida (Orientadora)

Doutora em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dra. Lilian Vanussa Madruga de Tunes

Doutora em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Maria

Dra. Andréa Bicca Noguez Martins

Doutora em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Universidade Federal de Pelotas

Dra. Fernanda da Motta Xavier

Doutora em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dra. Angelita Celente Martins

Doutora em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Pelotas

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus filhos Joaquim e Caetano, ao meu marido Robson Luiz Legorio Marques e aos meus pais Luiz Fernando Britto Sedrez, Tânia da Silva Sedrez, minha fortaleza, meu porto seguro em toda essa jornada.

Agradecimentos

A Deus por permitir essa conquista e por estar ao meu lado em todos os momentos dessa caminhada.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes por disponibilizar a estrutura física e corpo docente que possibilitaram a realização desse trabalho.

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

À minha orientadora, professora Dra. Andréia da Silva Almeida, pela orientação, compreensão, confiança e respeito ao longo dessa etapa.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação pelos ensinamentos.

A todos os colegas do programa de pós-graduação, e aos amigos que conquistei com os quais convivi e com quem muito aprendi.

A todos os membros da minha família que de um modo ou de outro contribuíram para realização desse trabalho, obrigada pelo apoio e incentivo.

Aos meus pais, Fernando e Tânia por todo amor, apoio, carinho, incentivo e compreensão nos momentos difíceis, a vocês, toda minha gratidão!

Aos meus irmãos Lenon e Luiza por todo amor, incentivo, e por me escutarem quando precisei desabafar!

Ao meu marido Robson, parceiro de estudos e muito trabalho, por ter participado diariamente deste trabalho, por escutar, incentivar, amar, se dedicar e caminhar ao meu lado sempre atrás do mesmo objetivo, tua força e carinho foi essencial para realizar este trabalho!

Aos meus filhos Joaquim e Caetano, por serem minha força e incentivo no decorrer desta caminhada, que eu possa passar através deste trabalho, que o estudo é o caminho mais recompensador que devemos percorrer.

Resumo

MARQUES, Fernanda Sedrez. **Metodologia alternativa para o teste de frio em sementes de milho**. 2023. 46f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O milho é um dos produtos agrícolas mais cultivados no mundo e tem uma grande importância na cadeia produtiva do Brasil, movimentando a economia nacional e internacional. O teste de frio é um dos mais antigos e populares testes para avaliação do vigor de sementes. O objetivo deste trabalho foi comparar procedimentos metodológicos para condução do teste de frio em sementes de milho. O experimento foi realizado no Laboratório Didático de Análise de Sementes– LDAS do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizados dezesseis lotes de sementes de milho, safra 2021, com níveis distintos de germinação. Inicialmente, os lotes foram homogeneizados, inicialmente foi realizada a caracterização inicial dos lotes através do teor de água, teste de germinação e emergência de plântulas. Na sequência foi realizada a metodologia adaptada do teste de frio, utilizando como substrato o papel Germitest®. A metodologia do teste de frio foi adaptada utilizando três temperaturas diferentes (10°C, 5 °C e 2 °C), onde cada uma das três temperaturas foram submetidas a três tempos de exposição (7 dias, 3 dias, 1 dia). Foi possível constatar que as diferentes metodologias do teste de frio estudadas, apresentaram diferenças na capacidade de avaliar o vigor das sementes de milho. A utilização do rolo de papel mostrou-se apropriada na estratificação de lotes de sementes, devido a permitir separar níveis de vigor com menor uso de mão-de-obra, menor tempo de execução, além de ocupar menos espaço.

Palavras-chaves: baixas temperaturas; vigor; *Zea mays* L.; substrato;

Abstract

MARQUES, Fernanda Sedrez. **Alternative methodology for the cold test on maize seeds.** 2023. 46f. Thesis (PhD in Seed Science and Technology) - Graduate Program in Seed Science and Technology, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Maize is one of the most widely grown agricultural products in the world and is of great importance in Brazil's production chain, driving the national and international economy. The cold test is one of the oldest and most popular tests for assessing seed vigor. The aim of this study was to compare methodological procedures for conducting the cold test on maize seeds. The experiment was carried out at the Didactic Laboratory for Seed Analysis (LDAS) of the Graduate Program in Seed Science and Technology at the Federal University of Pelotas. Sixteen batches of maize seeds were used, from the 2021 harvest, with different levels of germination. Initially, the batches were homogenized and the initial characterization of the batches was carried out using the water content, germination and seedling emergence tests. The adapted cold test methodology was then carried out, using Gemitest® paper as a substrate. The cold test methodology was adapted using three different temperatures (10°C, 5°C and 2°C), where each of the three temperatures was subjected to three exposure times (7 days, 3 days, 1 day). It was found that the different cold test methodologies studied differed in their ability to assess the vigor of maize seeds. The use of the paper roll proved to be appropriate for stratifying seed lots, as it allows for the separation of vigor levels with less use of manpower, shorter execution time, as well as taking up less space.

Keywords: low temperatures; vigor; *Zea mays* L.; substrate;

Lista de tabelas

Tabela 1 Teor de água (TA %) inicial de lotes de sementes de milho, Pelotas/RS, 2023.	25
Tabela 2 Caracterização inicial realizada pelos testes de Germinação (G%) e emergência (E%) de plântulas de lotes de sementes de milho, Pelotas/RS, 2023.	27
Tabela 3 Resumo da análise de variância para os fatores tratamentos x tempo de exposição x temperatura para o teste de frio em lotes de sementes de milho. Pelotas/RS, 2023	28
Tabela 4 Teste de frio em lotes de sementes de milho expostas as temperaturas de T2, T5 e 10 por 1 dia. Pelotas/RS, 2023	29
Tabela 5 Teste de frio em lotes de sementes de milho expostas as temperaturas de 2 °C, 5 °C e 10°C por 3 dia. Pelotas/RS, 2023	31
Tabela 6 Teste de frio em sementes de milho expostas as temperaturas de 2 °C, 5 °C e 10°C por 7 dia.....	33

Lista de figuras

Figura 1 Teste de frio em sementes de milho.....	24
Figura 2 Montagem do teste de frio em sementes de milho.....	25

Sumário

1	Introdução.....	12
2	Revisão de literatura	15
2.1	A cultura do milho	15
2.2	Potencial fisiológico de sementes	17
2.3	Efeito de baixas temperaturas sobre o processo de germinação	18
2.4	Utilização do teste de frio na avaliação do vigor de sementes.....	20
3	Material e métodos	22
3.1	Caracterização da qualidade inicial dos lotes	23
3.2	Adequação do teste de frio	24
3.3	Procedimento estatístico	25
4	Resultados e discussão	25
5	Conclusão	34
6	Referências bibliográficas	34

1 Introdução

O milho é um dos produtos agrícolas mais cultivados no mundo e tem uma grande importância na cadeia produtiva do Brasil, movimentando a economia nacional e internacional. Dentre as plantas cultivadas o milho é uma das de maior destaque mundial e ocupa uma das maiores áreas do mundo, sendo com o arroz e o trigo os cereais de maior expressão na agricultura (BARROS; CALADO, 2014). O Brasil atualmente produziu cerca de 110 milhões de toneladas na safra 2021/2022 (CONAB, 2021).

Essa commodity apresenta características de estudo bastante instigante, de modo que oferece base para avanços futuros (SILVA PINHEIRO et al., 2021), se tornando um alimento básico com produção total superando o trigo e o arroz (REHMAN et al., 2021), sendo a terceira cultura de cereais mais importante do mundo (ALI et al., 2020a; ADNAN & BILAL, 2020; ASIF et al., 2020).

A qualidade das sementes exprime-se através do seu potencial para desempenhar funções vitais e formar plântulas normais, mesmo em condições de stress após a semeadura (PEREIRA et al., 2011). O estabelecimento satisfatório do estande de mudas no campo depende diretamente da qualidade das sementes utilizadas, o que favorece a emergência de plântulas em menor tempo e com maior uniformidade (MARCOS-FILHO, 2015; PEREIRA et al., 2019).

Para simular as condições adversas no campo e auxiliar na avaliação de lotes de sementes, surgiu o conceito de vigor, juntamente com diversos testes para quantificar esse atributo (BALDINI et al., 2018). Devido à competitividade do mercado, a demanda por sementes de alto vigor é crescente, e essa qualidade deve ser verificada e mantida em todas as etapas de produção e pós-colheita.

Um dos principais fatores que influenciam a qualidade das sementes de milho (*Zea mays* L.) é a sua condição de armazenamento, com destaque para a temperatura e a umidade relativa do no armazém, que são essenciais para preservar a viabilidade dos lotes (TIMÓTEO & MARCOS-FILHO, 2013).

O teste de germinação é realizado em condições controladas que permitem

reações fisiológicas e bioquímicas necessárias para a germinação das sementes, entretanto, este teste pode subestimar os verdadeiros valores apresentados em campo. Desta forma, testes de vigor são indispensáveis (BERTOLIN et al., 2011; ROCHA et al. 2018; LEITE et al. 2019).

Os testes de vigor em conjunto com o de germinação buscam refinar as avaliações do potencial fisiológico das sementes, auxiliando na tomada de decisões, aumentando a rapidez e eficiência, além de melhorar o controle de qualidade dos lotes (BITTENCOURT et al. 2012).

Dentre os diversos procedimentos empregados, a avaliação do vigor é um requisito muito importante e que deve estar contido no programa de controle de qualidade da empresa. A qualidade de um lote de sementes é constantemente avaliada em laboratórios de análise, seguindo padrões estabelecidos pela Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009).

O teste de frio é um dos mais antigos e populares testes para avaliação do vigor de sementes. Foi desenvolvido, inicialmente, para avaliar o potencial fisiológico de sementes de milho, procurando simular condições desfavoráveis (excesso de água, baixas temperaturas e ocorrência de fungos do solo) que ocorrem, com frequência, durante a época de semeadura na área denominada Cinturão do Milho, nos EUA (CÍCERO; VIEIRA, 1994). A combinação entre alta umidade e baixa temperatura do solo tem sido associada com o desempenho deficiente de lotes de sementes, especialmente em regiões de clima temperado, onde é frequente a instalação de lavouras de milho no início da primavera (AOSA, 1983; HAMPTON; TEKRONY, 1995).

Além de avaliar o potencial de desempenho das sementes em campo e selecionar lotes para semeadura, esse teste pode ser usado para avaliar a eficiência de fungicidas, constituir parâmetro auxiliar para a seleção de materiais genéticos (em função da habilidade para germinar em solo úmido e frio), avaliar a deterioração resultante do armazenamento prolongado e efeitos de danos mecânicos. Também tem sido usado para avaliar o vigor de sementes de soja, algodão, sorgo e outras espécies (HAMPTON ; TEKRONY, 1995).

No Brasil, tem sido utilizado por empresas produtoras de sementes, principalmente nos estados do sul e sudeste, onde lavouras de algodão, milho e

soja podem ser semeadas entre o início do mês de setembro e meados de outubro. Nessa época, é comum a queda acentuada da temperatura e, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, podem ser verificados sérios problemas para a emergência das plântulas em campo (KRZYZANOWSKI et al., 1991).

O Comitê de Vigor da Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1983) descreve procedimentos para a condução desse teste nos EUA; no entanto, o mesmo não tem sido padronizado entre diferentes laboratórios, que geralmente conduzem suas próprias versões do teste. Essa diversidade de métodos tem contribuído para a desuniformidade dos resultados obtidos (BURRIS; NAVRATIL, 1979).

No Brasil, também são encontradas variações da metodologia (KRZYZANOWSKI et al., 1991; CÍCERO; VIEIRA, 1994; DIAS; BARROS, 1995), embora a maioria das análises seja conduzida utilizando-se a metodologia de "terra" em caixa. O método da bandeja praticamente não tem sido reconhecido no Brasil, embora seja o procedimento mais recomendado internacionalmente. Este método pode oferecer maior facilidade de padronização, controle mais adequado do umedecimento do substrato e, também, mostrar relação consistente com a emergência das plântulas em campo (BURRIS, 1990).

Assim, para avaliar o vigor tem-se como possibilidade o uso em laboratório de vários procedimentos, dentre eles o teste de frio. É um dos mais antigos e populares testes para avaliação do vigor de semente de milho e soja tanto em regiões de clima temperado como tropical ou sub-tropical. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi o de comparar procedimentos metodológicos para condução do teste de frio em sementes de milho.

2 Revisão de literatura

2.1 A cultura do milho

O milho (*Zea mays*), é uma cultura de altarelevância econômica e social para o mundo, sendo cultivado em diversos países do planeta, servindo como alimentação humana, animal e na geração de biocombustível (EMBRAPA, 2019). Essa commodity apresenta características de estudo bastante instigante, de modo que oferece base para avanços futuros (SILVA PINHEIRO et al., 2021), se tornando um alimento básico com produção total superando trigo e o arroz (REHMAN et al., 2021), sendo a terceira cultura de cereais mais importante do mundo (Ali et al., 2020a; Adnan & Bilal, 2020; Asif et al., 2020). Entre os maiores produtores, destacam-se os Estados Unidos, China e Brasil, que em consonância, produziram 64% do 1,11 bilhão de toneladas na safra 2019/20 (Conab, 2020).

Classificado como uma planta classificada botanicamente na família Poaceae e é uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza, devido à sua grande capacidade de acumulação de fotoassimilados (EMBRAPA, 2015). Seus primeiros registros datam de 7300 anos atrás, sendo originário da região da América Central (PATERNIANI et al., 2000; BALDO, 2007).

Com o clima propício, o cultivo se espalhou também para a América do Sul e, durante a colonização europeia, para outras regiões do mundo, se tornando uma importante cultura mundial (EMBRAPA, 2019). No Brasil, povos indígenas já conheciam e consumiam o milho antes mesmo da chegada dos portugueses. Com a colonização a cultura passou a ser mais explorada e o consumo aumentou, sendo um alimento consumido até hoje. Apesar disso o consumo brasileiro ainda é baixo, sendo cerca de 60 a 80% destinado a alimentação animal, comparado a países da América Central, onde a cultura base da alimentação (EMBRAPA, 2015).

Na atualidade a cultura se tornou um produto fundamental para a agricultura brasileira, deixando de ser uma cultura de subsistência e tornando-se uma commodity, com deslocamento geográfico e temporal da produção (EMBRAPA,

2019). Embora boa parte do milho ainda seja utilizado na alimentação animal, esse alimento é consumido pelos seres humanos sob as mais diversas formas, uma vez que seus derivados são utilizados em mais de 150 produtos industriais diferentes (STRAZZI, 2015).

O desenvolvimento do milho é definido através de fatores essenciais para seu crescimento, como disponibilidade de água, temperatura e luminosidade (CRUZ et al. 2006). Seu ciclo é dividido em duas grandes fases fenológicas: vegetativa (V), que vai da emergência (VE) até o pendoamento (VT); reprodutiva (R), iniciando no florescimento e polinização (R1) e se estendendo até maturação fisiológica e senescência (R6), período onde o grão se desenvolve (MAPA, 2006).

Preferencialmente, o cultivo deve ser realizado em regiões cuja precipitação varia de 300 a 5.000 mm anuais. A água desempenha papel fundamental nos estádios de iniciação floral e desenvolvimento da inflorescência, período de fertilização (onde mantém o pólen viável e garante o desenvolvimento e a penetração do tubo polínico) e enchimento de grãos, quando ocorre o aumento na deposição de matéria seca (MAPA, 2006).

Com relação ao período de cultivo, o Brasil, país tropical, leva grande vantagem se comparado às condições de clima temperado, no qual esse período é bem definido e relativamente curto (EMBRAPA, 2015), propiciando dois momentos de plantio, sendo a 1^o safra, ou safra de verão, e a 2^o safra, também chamada de safrinha ou safra de inverno.

O plantio da safrinha vem crescendo exponencialmente desde o final da década de 80, quando houve a necessidade de milho por suinocultores e avicultores que dependiam de culturas como trigo e girassol, únicas opções economicamente viáveis para semeadura no período outono/inverno na ocasião, e a perspectiva de colheita e comercialização do produto em época afastada de sua maior oferta (CRUZ et al., 2006).

2.2 Potencial fisiológico de sementes

A qualidade de sementes é determinada com base em aspectos físicos, fisiológicos, sanitários e genéticos, por meio de testes conduzidos em laboratório e em condições de campo. Dentro do aspecto fisiológico, o vigor é um componente fundamental da qualidade de sementes, sendo utilizado para mensurar seu potencial fisiológico (viabilidade e vigor) e identificar lotes que venham a apresentar bom desempenho, a exemplo da uniformidade e velocidade com que ocorre a germinação (TOLEDO et al., 1999).

Assim, o vigor pode ser compreendido como a “combinação de características que determinam o potencial para alta performance de sementes após o plantio” (MARCOS-FILHO, 2015a). Dentre alguns testes de vigor, tem-se o teste de frio, considerado um teste de resistência representado pela probabilidade das plântulas sobreviverem em campo frente a condições de estresse, como baixa temperatura, alta umidade e agentes patogênicos, indicando o potencial fisiológico de um lote de sementes (PERES, 2010; MARCOS-FILHO, 2015a).

A primeira contagem de germinação é realizada juntamente ao teste de germinação (BRASIL, 2009a), de forma que maior vigor das sementes é observado quanto maior a porcentagem de plântulas normais nessa contagem, estando correlacionadas com a velocidade de germinação (PERES, 2010), esta que é determinada ao longo do período em que o teste de germinação ocorre e complementa as informações obtidas na primeira contagem e contagem final. Plântulas normais são consideradas aquelas que apresentam “todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas, proporcionais e sadias” (BRASIL, 2009a).

O teste de massa de matéria seca de plântulas possibilita determinar que plântulas com maiores massas médias de matéria seca apresentam maior vigor, em função da maior transferência de massa seca pelos tecidos de reserva das sementes para o eixo embrionário durante a germinação (KRZYZANOWSKI et al., 2020).

Os testes de vigor devem ser associados ao teste de emergência das plântulas em campo para monitorar a sua eficiência. O teste de emergência de

plântulas também tem como base a porcentagem de plântulas normais, indicando o vigor de plântulas com o diferencial de estabelecer condições mais semelhantes às encontradas em situações de campo (OLIVEIRA, 2009a).

No que diz respeito à viabilidade, a germinação de sementes compreende um processo vital de três fases: Fase I – embebição, em que a captação de água pela semente culmina na reativação de seu metabolismo, intensificando a respiração e a atividade de enzimas e hormônios; Fase II – indução do crescimento, fase de repouso que compreende o processo bioquímico de produção de energia a partir da respiração, a digestão das reservas mediante sistemas enzimáticos e a translocação e assimilação de nutrientes; Fase III – crescimento do embrião, com a protusão da raiz primária, síntese de DNA e divisão celular e desenvolvimento da plântula (MARCOS-FILHO, 2015b).

2.3 Efeito de baixas temperaturas sobre o processo de germinação

A qualidade de um lote de semente compreende uma série de características ou de atributos que determinam o seu valor para a semeadura, os quais são considerados como de natureza genética, física, fisiológica e sanitária. Destes, pode ser destacado o potencial fisiológico, diretamente responsável pelo desempenho das sementes em campo e armazenamento (RODO et al., 2000).

A crescente demanda de semente de soja de alto padrão tem exigido da indústria de semente um controle de qualidade mais preciso. Tal exigência poderá ser suprida pelo aperfeiçoamento de teste de vigor para espécie em produção. O teste de germinação rotineiramente utilizado em laboratório de análise de semente para monitorar o potencial fisiológico de semente de soja, apresenta sérias limitações (FRANÇA NETO, 1994).

No que diz respeito a germinação, a semente de soja é relativamente exigente quanto às condições de umidade, por ser rica em óleo e proteína, traz, muitas vezes, sérios problemas à germinação de semente da espécie, não devendo ser semeada em solos secos, pois nesta condição ocorre uma maior evapotranspiração onde a semente atinge apenas 40% do teor de água, proporcionando a exsudação de materiais orgânicos e por conseguinte o ataque de fungos do solo, inclusive *aspergillus*. Acredita-se que os problemas são mais

sérios no Brasil, país tropical, do que nos EUA e Argentina, países de clima temperado, onde embora se tem alta umidade, tem-se ao mesmo tempo temperatura mais amena (VIEIRA et al., 1982).

A germinação é um processo que, como todos os outros biológicos, consome energia. A energia utilizada na germinação é proveniente da degradação de substâncias de reserva da própria semente, utilizando-se o oxigênio para “queimar” esses produtos. Em outras palavras, a germinação faz uso da energia proveniente da respiração, e como uma semente, por mais baixo que seja seu teor de água, nunca deixa de respirar, poder-se-ia, então, dizer que o processo maturação/germinação é ininterrupto; o que ocorre entre essas duas etapas aparentemente distintas é apenas uma redução da intensidade do fenômeno a tal ponto que parece nada estar ocorrendo (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Variações nas condições ambientais, em função da disponibilidade de água, temperatura e oxigênio são essenciais e exercem influência acentuada sobre a germinação, bem como na manifestação do potencial fisiológico da semente e, portanto, se a semeadura for realizada em condições ambientais desfavoráveis, a emergência de plântulas normais pode ser inferior à determinada em laboratório (MARCOS FILHO, 2005).

Dos fatores ambientais acima citados, a temperatura constitui-se num dos quesitos mais importantes na germinação de sementes de qualquer espécie. A temperatura influencia a germinação tanto por agir sobre a velocidade de absorção de água, como também sobre as reações bioquímicas que determinam todo processo (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). Semente de diferentes espécies apresentam comportamentos variáveis em função da temperatura, o que pode fornecer informações de interesse biológico e ecológico (LABOURIAU, 1983).

Dentro da faixa de temperatura em que as sementes de uma espécie germinam, há uma temperatura ótima, denominada como aquela em que ocorre o máximo de germinação em menor intervalo de tempo. Temperaturas mínima e máxima são aquelas em que a germinação é zero (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1989; BORGES & RENA, 1993). Os efeitos negativos causados por baixas temperaturas durante o período de embebição da semente sobre a

germinação, e subsequente crescimento e desenvolvimento da plântula e da planta, são conhecidos como injúrias por resfriamento (POPINIGIS, 1985).

A emergência das plântulas é diminuída e o seu período prolongado devido a baixa temperatura do solo em algumas regiões. Além disso, os efeitos tornam-se aditivos, sendo a velocidade de crescimento reduzida proporcionalmente ao número de dias de resfriamento (CHRISTIANSEN, 1967). Durante a embebição a baixa temperatura, pode ocorrer lixiviação de materiais orgânicos, possivelmente nucleotídeos, o que irá influenciar dos microrganismos do solo, deteriorando a semente. O vigor e a cobertura protetora exercem controle sobre o efeito de baixas temperaturas nas plântulas (POLLOCK & TOOLE, 1966). Contudo, a elevação da temperatura provoca redução da viscosidade e aumento da energia cinética da água, beneficiando a embebição e a velocidade das reações componentes do metabolismo (MARCOS FILHO, 2005).

2.4 Utilização do teste de frio na avaliação do vigor de sementes

Classificado como um teste de resistência, o teste de frio tem como princípio fazer uma avaliação no comportamento das sementes expostas a baixas temperaturas, alta umidade do substrato e ação dos agentes patogênicos do solo (quando se usa terra). A exposição a condições ambientais desfavoráveis, permite identificar o vigor, visto que a germinação ocorre apenas nas sementes que apresentam alto vigor (ZINI, 2018). Há diferentes metodologias utilizadas na realização do teste, dentre elas, o método do rolo de papel, método “terra em caixa” e o “método da bandeja” não reconhecido no Brasil, mas é o mais recomendando internacionalmente (CASEIRO; MARCOS FILHO, 2002).

Várias técnicas para análise de semente, conhecida como testes de vigor foram desenvolvidas, fornecendo informações próximas ao desempenho em campo. O teste de vigor habilita o produtor e usuário de semente a determinar e comparar o vigor de diferentes lotes antes que sejam comercializados (McDONALD, 1988), fornecendo inclusive, informações para fins de semeadura. Portanto, diversos segmentos do setor de produção de semente de grandes culturas têm demonstrado grande interesse na utilização de testes de vigor que avalie adequada e seguramente a qualidade fisiológica da semente. Assim,

testes que forneçam resultados confiáveis merecem cada vez mais atenção por parte dos pesquisadores (MARCOS FILHO, 2005).

O teste de frio é um dos mais antigos e populares testes para avaliação do vigor de semente. Foi desenvolvido, inicialmente, para avaliar o potencial fisiológico de semente de milho, procurando simular condições desfavoráveis (excesso de água, baixas temperaturas e presença de fungos do solo) que ocorrem, com frequência, durante a época de semeadura na área denominada Cinturão do Milho, nos EUA (CÍCERO & VIEIRA, 1994).

Muitos autores têm relatado que a atividade dos microrganismos de solo é um parâmetro crítico do teste de frio, sendo que entre 6 e 10° C os patógenos podem ter sua virulência inativada, fato esse, observado em arroz irrigado (NIJENSTEIN, 1985). Os fungos reduzem o vigor da plântula em temperaturas menores, sendo que a mesma tem efeito marcante sobre a severidade da doença, e, este efeito varia com o tipo de fungo. Há um aumento na severidade das doenças de raiz, fazendo decrescer a sobrevivência de plântulas. Em trevo subterrâneo, podridão radicular ocorre entre 10 e 15° C e o principal patógeno envolvido é o *Pythium* (WONG et al., 1984), sendo que o mesmo verificou-se para diferentes espécies cultivadas em condições de baixa temperatura (KAISER & HANNAN, 1983; NIJENSTEIN, 1985).

A eficiência do teste de frio foi comprovada experimentalmente por diversos pesquisadores e foi sugerido seu uso na seleção de linhagens de milho antes do período de semeadura, dado sua sensibilidade em prognosticar o desempenho das sementes em campo. Esse teste tem sido utilizado com sucesso, também, para diferenciar níveis de vigor relacionados com a forma, peso, tamanho e tratamento de sementes (MARCOS FILHO et al., 1977; SILVA & MARCOS FILHO, 1979).

No Brasil, tem sido utilizado por empresas produtoras de semente, principalmente nos estados do sul e sudeste, onde lavouras de algodão, milho e soja podem ser semeadas entre o início do mês de setembro e meados de outubro. Nessa época, é comum a queda acentuada de temperatura e, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, podem ser verificados

sérios problemas na emergência das plântulas em campo (KRZYZANOWSKI et al., 1991).

O Comitê de Vigor da Association of Official Seed Analysts (AOSA, 2002) descreve procedimentos para a condução do teste nos EUA; no entanto, o mesmo não tem sido padronizado entre diferentes laboratórios de empresas privadas, que geralmente conduzem suas próprias versões do teste. Algumas variações com relação a metodologia do teste foram propostas, no sentido de facilitar a sua execução, como o método desenvolvido por HOPE (1955) e CROSIER (1957), citados por FIALA (1981), que consiste na utilização de rolos de papel de germinação com terra, reduzindo a quantidade de terra e o espaço necessário, esse último, fator limitante para alguns laboratórios.

LOEFFLER et al. (1985), procurando manter os princípios básicos do teste de frio sugeriram a utilização de rolos de papel de germinação sem terra, posteriormente mais conhecido como teste de frio sem terra. Segundo os autores, esse método apresentou sensibilidade suficiente para detectar efeitos de danos causados pela secagem em sementes de milho, além de proporcionar maior reprodutibilidade de resultados, devido à simplicidade do método, quando comparado ao anterior. Todavia, diversas espécies são avaliadas pelos diferentes procedimentos existentes do teste de frio, entre elas milho (MOLINA et al., 1987; CASEIRO & MARCOS FILHO, 2000 e 2002); trigo (FANAN et al., 2006); maxixe (TORRES et al., 1999); feijão (MIGUEL & CÍCERO, 1999a) soja (RICE, 1960; JOHNSON & WAX, 1978; TAO, 1978; VIEIRA et al., 1992; MIGUEL & CÍCERO, 1999b; CARVALHO et al., 2000); pimentão (FERNANDES et al., 1999); arroz (CAMPOS, 1998); algodão (KRZYZANOWSKI, 1980; MIGUEL et al., 2001).

Assim o teste de frio visa a avaliação dos efeitos da combinação de baixa temperatura, ação de microrganismos e alta umidade do substrato, identificando diferenças no potencial fisiológico de amostras de lotes de semente (CASEIRO & MARCOS FILHO, 2000 e 2002).

3 Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório Didático de Análise de Sementes– LDAS do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, localizado no município de Capão do Leão – RS no ano de 2021.

Foram utilizados dezesseis lotes de sementes de milho, safra 2021, com níveis distintos de germinação. Inicialmente, os lotes foram homogeneizados, com base nos critérios das regras para análise de sementes (BRASIL, 2009).

3.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes

Teor de água (TA%): foi determinado utilizando o método de estufa a 105 ± 3 °C, por um período de 24 horas, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Utilizou-se duas repetições de 3 gramas de sementes para cada lote e os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

Teste de germinação (G%): O teste de germinação foi realizado em papel germitest® (três folhas), previamente umedecidos com quantidade de água destilada correspondente a duas vezes e meia o seu peso total. Depois de colocadas as 50 (cinquenta) sementes por repetição, os rolos de papéis foram acondicionados em germinador com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Aos 07 (sete) dias foram realizadas as contagens do número de plântulas normais, seguindo os critérios das Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Emergência de plântulas (E%): o delineamento foi de blocos ao acaso. Cada repetição foi realizada em uma linha de 4m de comprimento, onde foram distribuídas 50 sementes, espaçadas entre si de 8cm, em sulcos com cerca de 7cm de profundidade e cobertas com, aproximadamente, 3cm de terra. O espaçamento entre linhas foi de 40cm. Aos 14 dias após a semeadura, foi realizada a contagem, expressando-se os resultados em porcentagem de plântulas normais.

3.2 Adequação do teste de frio

Cada repetição foi realizada com 50 sementes, totalizando 200 sementes. A metodologia foi adaptada no substrato; temperatura e tempo de exposição.

O papel Germitest® foi umedecido com 2,5 vezes o peso do papel seco, conforme descrito nas regras de análise de sementes (BARROS et al., 1999) e acondicionado em sacos plásticos para manter a umidade. Foram distribuídas quatro repetições de 50 sementes de cada lote, sobre duas folhas de papel toalha Germitest® a seguir, o conjunto foi coberto com uma terceira folha, enrolado e acondicionado em sacos plásticos para manter a umidade.

A metodologia do teste de frio foi adaptada utilizando três temperaturas diferentes (10°C, 5 °C e 2 °C), onde cada uma das três temperaturas foram submetidas a três tempos de exposição (7 dias, 3 dias, 1 dia).

Decorridos os respectivos períodos para cada temperatura, os rolos foram transferidos para germinador, a 25°C, onde efetuaram-se as contagens de plântulas normais aos 7 dias. Os resultados foram expressos em porcentagem média por lote.



Figura 1 Teste de frio em sementes de milho

Fonte: Autor



Figura 2 Montagem do teste de frio em sementes de milho

Fonte: Autor

3.3 Procedimento estatístico

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e posterior comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância.

4 Resultados e discussão

O teor de água das sementes foi semelhante para os 16 lotes (Tabela 1), sendo a amplitude de variação entre 11,82 a 12,42%, demonstrando que não houve interferência do mesmo nos resultados obtidos dos testes. Esse fato é importante para a confiabilidade das demais avaliações e o fornecimento de resultados coerentes (TUNES et al., 2016; FIGUEIREDO et al., 2021). Sabe-se que o controle da umidade das sementes é de fundamental importância, pois o excesso acelera o metabolismo das sementes, influenciando diretamente vários aspectos de sua qualidade fisiológica (SARMENTO et al., 2015).

Tabela 1 Teor de água (TA %) inicial de lotes de sementes de milho, Pelotas/RS, 2023.

Lotes	TA%
-------	-----

1	12,42
2	12,21
3	12,02
4	11,86
5	11,83
6	11,94
7	12,28
8	12,39
9	11,91
10	11,95
11	12,20
12	11,82
13	12,09
14	12,23
15	12,39
16	11,84

A germinação de sementes corresponde a emergência e desenvolvimento do embrião, de modo que ocorra a produção de uma planta normal em condições favoráveis de campo (BRASIL, 2009b). O teste de germinação tem como objetivo avaliar o potencial máximo de germinação, no entanto, pode superestimar os valores, não fornecendo informações reais em decorrência do teste ser realizado em ambiente controlado (LIMA JUNIOR et al., 2010).

Analisando os resultados do teste de germinação, observou-se que apenas os lotes 13 e 14 apresentaram diferença entre si (Tabela 2). A semelhança na germinação entre os lotes de sementes é de fundamental importância em estudos com objetivo de ajuste de metodologia para avaliação do vigor das sementes, pois o objetivo de um teste de vigor é detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes de sementes com germinação semelhante, porém com diferença quanto ao vigor (MARCOS-FILHO ; NOVENBRE 2009).

Entretanto, todos os lotes de sementes atenderam ao padrão mínimo de germinação estabelecido para a comercialização de sementes de milho que é 85% (BRASIL, 2013).

O teste de emergência fundamenta-se na determinação do vigor de sementes, através do percentual de plântulas obtidas, sendo semelhante ao teste de germinação, no entanto, é conduzido em condições não controladas, ou seja, com a temperatura, umidade e luminosidade naturais (SUÑE, 2016).

Em relação ao resultados de emergência de plântulas, os tratamentos 1, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 e 16 não apresentaram diferença estatística (Tabela 2). De acordo com Bewley et al., (2013), a redução na porcentagem de emergência de plântulas é consequência do processo natural de envelhecimento das sementes, que está relacionado a danos no sistema de membranas. Além disso, este teste é utilizado como teste de referência para avaliar a eficiência dos testes de vigor na diferenciação de lotes que apresentam respostas semelhantes no teste de germinação (MARCOS FILHO, 2015).

Portanto, o teste de emergência é um excelente indicativo para avaliar o vigor das sementes, pois é conduzido em condições ambientais onde as sementes estão sujeitas a fatores adversos na semeadura em campo (SILVEIRA et al., 2002).

Tabela 2 Caracterização inicial realizada pelos testes de Germinação (G%) e emergência (E%) de plântulas de lotes de sementes de milho, Pelotas/RS, 2023.

Lotes	Germinação (G%)	Emergência (E%)
1	93 ab	94 ab
2	94 ab	82 de
3	93 b	81 e
4	93 ab	82 de
5	93 ab	86 cd
6	94 ab	84 de
7	93 ab	90 bc
8	93 ab	85 cde

9	94 ab	94 ab
10	94 ab	97 a
11	95 ab	95 a
12	94 ab	94 ab
13	95 a	95 a
14	94 ab	96 a
15	94 ab	94 ab
16	94 ab	96 a

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

Em relação ao teste frio, os resultados da análise de variância revelaram que houve interação tripla entre os fatores tratamentos x tempo de exposição x temperatura. (Tabela 3).

Tabela 3 Resumo da análise de variância para os fatores tratamentos x tempo de exposição x temperatura para o teste de frio em lotes de sementes de milho. Pelotas/RS, 2023

Fonte de variação	GL	QM	
Tratamento	15	3934,114	**
Tempo	2	358,2622	**
Temperatura	2	14654,71	**
Tratamento*Tempo	30	285,1751	**
Tratamento*Temperatura	30	659,4675	**
Tempo*Temperatura	4	1665,741	**
Tratamento*Tempo*Temperatura	60	166,6626	**
Resíduo	432	10,16319	
Total	575		
CV	=	3,83	%

* ou ** = significativo ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Analisando o desdobramento da interação, estudando os resultados dos lotes dentro de cada temperatura, verificou-se que os lotes 10, 11 e 14 quando

submetidos às temperaturas 2 °C e 5 °C por 1 dia, foram mais vigorosos. Para a temperatura 10 °C os lotes 9, 11 e 14 apresentaram-se mais vigorosos, enquanto, o lote 4 foi considerado de baixo vigor (Tabela 4).

De forma geral, se os resultados do teste de frio se aproximaram dos obtidos no teste padrão de germinação, há grande possibilidade desse lote apresentar capacidade para germinar sob ampla variação das condições de conteúdo de água e temperatura do solo (CICERO e VIEIRA, 1994).

Tabela 4 Teste de frio em lotes de sementes de milho expostas as temperaturas de T2, T5 e 10 por 1 dias. Pelotas/RS, 2023

Lotes	1 Dia					
	T 2		T5		T10	
1	73	ef	76	f	73	e
2	73	ef	78	ef	76	d
3	66	fg	84	de	73	e
4	45	h	62	g	67	f
5	77	de	87	bcd	92	ab
6	86	bc	93	abc	81	cd
7	80	cde	82	def	86	bcd
8	65	g	83	def	77	d
9	96	a	96	a	96	a
10	95	a	96	a	92	ab
11	95	a	96	a	95	a
12	92	ab	94	ab	91	ab
13	82	cd	86	cd	93	abc

14	98	a	96	a	96	a
15	92	ab	90	abcd	92	abc
16	80	cde	85	cde	80	ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de tukey

O teste de frio foi inicialmente desenvolvido para simular as condições de alta umidade e baixa temperatura que prevaleciam no "cinturão do milho", nos Estados Unidos da América, por ocasião da semeadura (KRZYZANOWSKI et al., 1991).

A presença de certos patógenos nestas condições poderão via a afetar a germinação, o crescimento e a emergência de plântulas.. Atualmente, o teste de frio é o mais empregado na avaliação do vigor de sementes de milho e estudos vem sendo desenvolvidos para adequá-lo a outras espécies, que não necessariamente sejam cultivadas em condições semelhantes as encontradas no "cinturão do milho", pois o objetivo é que seja utilizado como teste de rotina em laboratórios de análise de sementes na avaliação da qualidade fisiológica (CICERO e VIEIRA, 1994).

O estresse abiótico é produzido por fatores ambientais naturais, tais como temperatura, frio, calor e salinidade. Um dos tipos de estresse abiótico é o frio, ele tem um enorme impacto na agricultura, pelo fato de que, o frio afeta os produtores agrícolas em nível mundial. EROS significa espécies reativas de oxigênio, essas irão desempenhar um papel importante na mediação de eventos através da transdução (TAIZ et al., 2017).

Estudos revelaram que, o stress provocado pelo frio demonstrou aumentar a transcrição, a proteína e a atividade de diferentes enzimas de eliminação de EROS, já o stress por baixa temperatura demonstrou aumentar a acumulação de H₂O₂ nas células. No entanto, as sementes podem ser aclimatadas a baixas ou mesmo a temperaturas de congelamento, pois, isto poderá ativar os genes de resposta ao frio na planta, mesmo se temperaturas estiverem abaixo de zero podem sobreviver, isso os genes adequados forem ativados (SUZUKI ; MITTLER, 2006).

As flutuações de temperatura têm efeitos generalizados no crescimento e na sobrevivência das plantas, que, por isso, desenvolveram mecanismos que

lhes permitem que lhes permitem adaptar-se a essas alterações. A resposta ao choque pelo frio é um desses mecanismos, consiste numa série de mudanças adaptativas que vão desde alterações na composição das membranas até alterações no perfil proteico global da célula (THOMASHOW., 1999).

Em relação a tabela 5, os lotes 9, 10, 11, 12, 14 e 15 submetidos à temperatura de 2 °C pelo teste de frio por 3 dias, apresentaram maior vigor em relação aos demais lotes. Contudo, na temperatura de 5°C, os lotes 9, 10, 11 e 14 expressaram maior vigor. Já para a temperatura de 10 °C, os lotes 4, 9, 11 e 14 expressaram maior vigor quando comparados com os demais lotes.

Vale ressaltar que, o maior valor de germinação verificado foi através da metodologia rolo de papel, com três dias de exposição à 10°C. Segundo LOEFFLER et al. (1988), o rolo de papel sem terra é menos drástico em função de avaliar diretamente os efeitos da baixa temperatura e alta umidade, sem a interferência de outros fatores, como por exemplo, a microbiota do solo.

A germinação e o vigor das sementes são os principais atributos fisiológicos de qualidade de sementes. O teste de vigor é importante porque muitas vezes dá uma melhor previsão do desempenho no campo e é um indicador mais sensível da qualidade das sementes do que o teste de germinação padrão (MAKKAWIL et.al., 1999).

Tabela 5 Teste de frio em lotes de sementes de milho expostas as temperaturas de 2 °C, 5 °C e 10°C por 3 dias. Pelotas/RS, 2023

Lotes	3D					
	2 °C		5 °C		10 °C	
1	28	h	73	e	84	de
2	70	cd	80	cde	85	de
3	63	de	75	e	68	f
4	60	ef	78	de	100	a
5	44	g	84	bcd	85	de
6	81	b	84	bcd	86	cd
7	54	f	72	e	87	cd
8	66	de	79	de	77	e
9	93	a	96	a	100	a

10	95	a	98	a	98	ab
11	96	a	96	a	99	a
12	93	a	85	bcd	97	ab
13	76	bc	83	bcd	91	bcd
14	94	a	96	a	100	a
15	93	a	88	b	93	abc
16	52	f	87	bc	91	bcd

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de tukey

De maneira geral, foi possível verificar que as sementes quando submetidas à períodos maiores de exposição à baixas temperaturas sofrem maior estresse que quando submetidas a períodos menores, provocando menor porcentagem de emergência de plântulas. Segundo WASSINK e HOEFMAN (1992), isso se deve ao fato de que em períodos de frio mais prolongados, ocorre uma maior exsudação de açúcares da semente, essenciais ao desenvolvimento.

O teste de frio é considerado o mais antigo método de teste de vigor e provavelmente o mais popular utilizado para avaliação do vigor de sementes nos Estados Unidos. É o principal teste para a indústria de sementes universais de milho híbrido, mas também pode ser usado para outras espécies, como cevada (*Hordeum vulgare* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), algodão, berinjela (*Solanum melongena* L.), feijão, alface (*Lactuca sativa* L.), cebola (*Allium cepa* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), soja e outras (MARCOS FILHO, 2015).

O teste de frio teve origem na necessidade de estimar a emergência de plântulas com um procedimento mais sensível do que o teste de germinação padrão. Por essa razão, não é surpreendente que um teste que incluísse o solo como componente do substrato para estimar a emergência de plântulas tenha sido o primeiro teste de vigor utilizado regularmente pela indústria de sementes de milho (MARCOS FILHO, 2015).

Em relação a tabela 6, observou-se que os lotes 9, 10, 11, 12, 14 e 15 submetidos à temperatura de 2 °C pelo teste de frio por 7 dias, apresentaram maior vigor em relação aos demais lotes. Entretanto, na temperatura de 5°C, os lotes 9, 10, 12 e 14 expressaram maior vigor. Já para a temperatura de 10 °C, o

lote 10 obteve o maior resultado de germinação pelo teste frio, porém, não apresentou diferença estatística entre os lotes 9, 11 e 12.

Tabela 6 Teste de frio em sementes de milho expostas as temperaturas de 2 °C, 5 °C e 10°C por 7 dias, Pelotas/RS, 2023

Lotes	7D					
	2 °C		5 °C		10 °C	
1	18	g	92	abcd	84	f
2	57	c	85	de	88	ef
3	57	cd	79	e	89	def
4	54	cde	79	e	86	ef
5	41	f	89	bcd	87	ef
6	75	b	79	e	89	def
7	49	de	92	abcd	92	bcde
8	58	c	87	cd	87	ef
9	91	a	97	a	99	abc
10	91	a	98	a	100	a
11	92	a	95	abc	100	ab
12	93	a	98	a	96	abcd
13	67	b	85	de	88	ef
14	90	a	97	a	100	ab
15	89	a	95	ab	98	abc

16 47 ef 78 e 91 cdef

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de tukey

O teste a frio tem por objetivo submeter as sementes a situações adversas e extremas, avaliando o efeito da baixa temperatura e presença de umidade sobre o processo de germinação.

Trabalhando com o teste de frio com papel sem solo em sementes de pinhão-manso Oliveira et al. (2015) colocaram 8 subamostras de 25 sementes em duas folhas de papel germitest umedecido 2,7 vezes ao peso do substrato seco, antes da montagem do teste o papel foi mantido na temperatura de 10°C por 24 horas. Verificou-se que os tratamentos resfriados por 11 dias separaram os lotes em 3 níveis de vigor, o tratamento resfriado por 5 dias também obteve bons resultados, separou os lotes em 4 níveis de vigor.

5. Conclusões

Foi possível constatar que as diferentes metodologias do teste de frio estudadas, apresentaram diferenças na capacidade de avaliar o vigor das sementes de milho.

A utilização do rolo de papel mostrou-se apropriada na estratificação de lotes de sementes, devido a permitir separar níveis de vigor com menor uso de mão-de-obra, menor tempo de execução, além de ocupar menos espaço.

6. Referências bibliográficas

ADNAN, M.; BILAL, H. M. Role of boron nutrition on growth, phenology and yield of maize (*Zea mays* L.) hybrids: A review. Open Access **Journal of Biogenic Science and Research**, v. 4, n.1, p. 1-8, 2020.

ALI, A.; ADNAN, M.; ABBAS, A.; JAVED, M. A.; SAFDAR, M. E.; ASIF, M.; IMRAN, M.; IQBAL, T.; REHMAN, F. U.; AHMAD, R. Comparative performance of various maize (*Zea mays* L.) cultivars for yield and related attributes under semi-arid environment.. **Agricultural and Biological Research**, v. 36, n. 4, p. 63-66, 2020.

ASIF, M.; NADEEM, M. A.; AZIZ, A.; SAFDAR, M. E.; ADNAN, M.; ALI, A.; ULLAH, N.; AKHTAR, N.; ABBAS, B. Mulching improves weeds management, soil carbon and productivity of spring planted maize (*Zea mays* L.). **International Journal of Botany Studies**, v. 5, n. 2, p. 57-61, 2020.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. Seed vigor testing handbook. Lincoln: AOSA, 2002. 105p. (Contribution, 32).

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. Seed vigor testing handbook s.l.: AOSA, 1983. 88p. (Contribution. no 32 to the Handbook on Seed Testing).

BALDINI, M.; FERFUIA, C.; PASQUINI, S. Effects of some chemical treatments on standard germination, field emergence and vigour in hybrid maize seeds. **Seed Science and Technology**, v.46, p.41-51, 2018.

BALDO, M. N. Comportamento anatômico, fisiológico e agrônômico do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos. ESALQ. Piracicaba, 2007.

BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L.; CICERO, S.M.; KRYZANOWSKI, F.C. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, cap.5, n. 1-5, 1999.

BARROS, J. F. C; CALADO J. G. A cultura do milho, Évora, v.1, 52p., 2017.

BERTOLIN, D.C.; SÁ, M.E.; MOREIRA, E.R. Parâmetros do teste de envelhecimento acelerado para determinação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.1, p.104-112, 2011.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. Seeds: physiology of development, germination and dormancy. 3rd ed. New York:

Springer, 2013. 392p. DOI: 10.1007/978-1-4614-4693-4.

BITTENCOURT, S.R.M.; GRZYBOWSKI, C.R.S.; PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1360-1365, 2012.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑARODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.). Sementes floresta tropicais. Brasília: ABRATES, 1993. p. 83-135.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 395p. 2009. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise__sementes.pdf. Acesso em: 01 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.45, de 17 de setembro de 2013. Estabelece padrões de identidade e qualidade para a produção e a comercialização de sementes de espécies de grandes culturas inscritas no Registro Nacional de Cultivares - RNC e não contempladas com padrão específico. Diário Oficial da União, v.150, n. 183, seção 1, p. 6-27, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Análise Sanitária de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009b. 200p

BURRIS, J.S. Recommended cold test procedure. **Journal of Seed Technology**, v.14, p.182-194, 1990.

BURRIS, J.S.; NAVRATIL, R.J. Relationship between laboratory cold-test methods and field emergence in maize inbreds. **Agronomy Journal**, v.71,

p.985-988, 1979.

CAMPOS, V.C. Metodologia do teste de frio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de arroz irrigado. Pelotas, 1998. 63 f. Tese de doutorado em Agronomia, (Ciência e Tecnologia de Sementes), Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

CAMPOS, V.C. Metodologia do teste de frio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de arroz irrigado. Pelotas, 1998. 63 f. Tese de doutorado em Agronomia, (Ciência e Tecnologia de Sementes), Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

CARVALHO, M.A.C.; LAZARINI, E.; SÁ, M.E.; OLIVEIRA, A.L. Variações na metodologia do teste de frio para avaliação do vigor em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 74-80, 2000.

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

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

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

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

CHRISTIANSEN, N.M. Periods of sensitivity to chilling in germination cotton.

Plant Physiology, Lancaster, v. 42, n. 431-433, 1967.

CICERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.) Testes de vigor emsementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.151-164.

CÍCERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor emsementes Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.151-164.

CONAB. Conabcampanhianacional de abastecimento. <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4684-producao-de-graos-e-estimadaem-272-5-milhoes-de-toneladas-com-clima-favoravel-para-as-culturas-de-2-safra>

CROSIER, W.F. Fungi involved and methods of conducting cold tests. Proceedings of the Association of Official **Seed Analysts**, v.47, p.185-190, 1957.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M. Manejo da cultura do Milho. MAPA. CIRCULAR TÉCNICA 87. Sete Lagoas, MG. Dez., 2006.

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

EMBRAPA. Cigarrinhas e enfezamentos no milho: manejo do risco e convivência. 2019. Acesso em: mar. 2023.

EMBRAPA. Cultivo do Milho. 2015. Disponível em: <https://www.spo.cnptia/Acesso:em:julho.2023>.

FANAN, S.; MEDINA, P.F.; LIMA, T.C.; MARCOS FILHO, J. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p. 152-158, 2006.

FERNANDES, H.S.; NEDEL, J.L.; GALLI, J. Uso de testes de vigor de sementes na detecção de variabilidade genética intracultivar empimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.9, p.1699-1703, set. 1999.

FIALA, F. Cold test. In: PERRY, D.A., (Ed.) Handbook of vigour test methods. Zurich, **International Seed Testing Association**, p. 28-36, 1981.

FIGUEIREDO, J.C. et al., Teste de condutividade elétrica em sementes de linho. **Investigación Agraria**, v. 23 n.2, p. 81-85, 2021.

FRANÇA NETO, J.B. O teste de tetrazólio em sementes de soja. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M (Ed.) Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 87-102.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. Handbook of vigour test methods 3.ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. 117p.

HOPPE, P.E. Correlation between corn germination in laboratory cold tests and stands in the field. **Plant Disease Reporter**, v.40, p.887-889, 1956.

JOHNSON, R.R.; WAX, L.M. Relationship of soybean germination and vigor test to field performance. **Agronomy Journal**, v. 70, n. 2, 273-278, 1978.

JOHNSON, R.R.; WAX, L.M. Relationship of soybean germination and vigor test to field performance. *Agronomy Journal*, v. 70, n. 2, 273-278, 1978.

KAISER, W.J.; HANNAN, R.M. Etiology and control of seed decay and preemergence damping-off of chickpea by *Pythium ultimum*. **Plant Disease**, v. 67, p. 77-81, 1983.

KRZYZANOWSKI, F. C. et al. Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. 2. ed.

Londrina: ABRATES, 2020. Cap. 2, p. 93-104.

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

KRZYZANOWSKI, F.C; FRANÇA NETO, J.B. Testes de vigor em sementes. In: Encontrosobreavãço sem tecnologia de sementes, Pelotas: FAEM/UFPEL. 10 a 12/jul./1991. 5 p.

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

LEITE, M.S., et al. Classification of West Indian gherkin seeds vigor by respiratory activity. **Revista Ciência Agrônômica**. v. 50, n.2, p.307-311, 2019.

LIMA JUNIOR, M. J. V. FIGLIOLIA, M.B., PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; GENTIL, D. F. O.; SOUZA, M. M.; SILVA, V. S. Manual de procedimentos para análise de sementes florestais. Manaus: UFAM, 2010. 146p.

LOEFFLER, N.L.; MEIER, J.L.; BURRIS, J.S. Comparison of two cold test procedures for use in maize-drying studies. **Seed Science and Technology**, v.13, n.3, p.653-658, 1985.

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

MAKKAWI, M.; EL BALLA, M.; BISHAW, Z.; VAN GASTEL, A. J. G. The relationship between seed vigour tests and field emergence in lentil (*Lens culinaris Medikus*), **Seed Sci. & Technol.**, v. 27, p.657-668, 1999.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Fisiologia da Produção de Milho. **Circular Técnica 76**. Sete Lagoas, MG. Dezembro, 2006.

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

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-1,21.

MARCOS FILHO, J.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W. M. (Ed.). Tecnologia de sementes de hortaliças. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009. p. 185-246.

MARCOS FILHO, J.; SILVA, A.E. da; CICERO, S.M.; GONÇALVES, C.A.R. Efeitos do tamanho da semente sobre a germinação, o vigor e a produção do milho (*Zea mays* L.). Anais da ESALQ, 34:327-37, 1977.

MARCOS-FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015b. 660 p.

MARCOS-FILHO, J. Seed physiology of cultivated plants. 2nd ed. Londrina: Abrates, 2015.

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

MAYER, A.C.; POLJAKOFF-MAYBER, A. The germination of seeds. London: Pergaman Press, 1989. 270p.

McDONALD, M.B. Challenges in seed technology. In: SEED TECHNOLOGY CONFERENCE, 10, Ames, 1988. Proceedings. Ames: Iowa State University, 1988. p.11-31.

MIGUEL, M.H.; CÍCERO, S.M. Teste de friagem e avaliação do vigor de sementes

de feijão. **Scientia Agrícola**, v.56, n.4, p.1233-1243, out./dez. 1999a. Suplemento.

MOLINA, J.C.; IRIGON, D.L.; ZONTA, E.P. Comparação entre metodologias do teste de frionaavaliação da qualidadefisiológica de sementes de milho (zea mays l.). **Revista Brasileira de Sementes** vol.9, n.3, p. 77-85, 1987.

NIJENSTEIN, J.H. Effects of some factors influencing cold test germination of maize. *Seed Science and Technology*, v. 14, p. 313-326, 1985.

OLIVEIRA, G. L.; HILST, P. C.; SILVA, L. J. da; SEKITA, M. C.; DIAS, D. C. F. dos S. Teste de frio para avaliação do potencialfisiológico de sementes de pinhãomanso (*Jatropha curcas* L.) **Bioscience Journal**, v. 31, n. 2, p. 509-517, 2015.

OLIVEIRA, T.L. de; VON PINHO, R.G.; SANTOS, H.O. dos; SILVA, K.M. de J.; PEREIRA, E. de M.; SOUZA, J.L.D. Biochemical changes and physiological quality of corn seeds subjected to different chemical treatments and storage times. **Journal of Seed Science**, v.42, e202042038, 2020.

PATERNIANI, E.; NASS, L. L; SANTOS, M. X. O valor dos recursosgenéticos de milho para oBrasil. In: Uma históriabrasileira do milho - o valor dos recursosgenéticos. Brasília, 2000.

PEREIRA, L.C.; CORREIA, L.V.; FELBER, P.H.; PEREIRA, R.C.; MATERA, T.C.; SANTOS, R.F. DOS; BRACCINI, A.L. Correlation between physiological tests and field emergence in treated corn seeds. **Plant, Soil and Environment**, v.65, p.569- 573, 2019.

PEREIRA, M.F.S.; TORRES, S.B.; LINHARES, P.C.F.; PAIVA, A.C.C.; PAZ, A.E.S.; DANTAS, A.H. Qualidadefisiológica de sementes de coentro [*Coriandrum sativum* (L.)]. **Revista Brasileira de PlantasMedicinais**, v.13, p.518-522, 2011.

PERES, W. L. R. Testes de vigor em sementes de milho. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2010.

POLLOCK, B.M., TOOLE, V.K. Imbibition period as the critical temperature sensitive stage in germination of lima bean seeds. **Plant Physiology**, v. 41, p. 221-229, 1966.

POPINIGIS, F. Fisiologia da Semente. Brasília: AGIPLAN, 195. 29 p.

RICE, W.N. Development of the cold test for seed evaluation. Proceeding of Official **Seed Analysts**, v. 50, n. 1, p. 118-123, 1960.

ROCHA, C. S.; CATÃO, H. C. R. M.; CAIXETA, F.; KAVAN, H. K.; CLAUDINO, T. M.; CAIXETA, D. G.. Physiological quality of popcorn seeds assessed by the accelerated aging test. **Journal of Seed Science**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 428-434, out. 2018.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, B.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 289-292, abr./jun. 2000.

SARMENTO, H.G.S.; DAVID, A. M. S. S.; BARBOSA, M. G.; NOBRE, D. A. C.; AMARO, H. T. R. Determinação do teor de água em sementes de milho, feijão e pinhão-manso por métodos alternativos. **Energiana Agricultura**, v. 30, n. 3, p. 249-256, 2015.

SILVA PINHEIRO, L.; SILVA, R. C.; CONCEIÇÃO VIEIRA, R.; AGUIAR, R. O.; NASCIMENTO, M. R.; VIEIRA, M. M.; SOUSA, R. F.; OLIVEIRA, J. T.; SILVA, J.N.; SILVA, V. F. A.; SILVA, P. A. Análise de trilhados atributos físicos de milho (*Zea mays* L.) em sistema de cultivo convencional. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e8010110832-e8010110832, 2021.

SILVA, W.R.; MARCOS FILHO, J. Efeitos do peso e do tamanho das sementes de milho sobre a germinação e vigor em laboratório. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 1, n. 1, p. 39-52, 1979.

SILVEIRA M. A. M.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. A. Comparação de métodos para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de calêndula. ***Revista Brasileira de Sementes***, v. 24, n. 2, p. 24-30, 2002.

STRAZZI, S. Derivados do milho usados em mais de 150 diferentes produtos industriais. Associação Brasileira das Indústrias do Milho, Brasília – DF. 2015.

SUÑE, A. dos S. Emergência de Plântulas em Diferentes Substratos e Profundidades de Semeadura: Nova Metodologia na Avaliação do Vigor em Sementes de Milheto. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

SUZUKI, N.; MITTLER, R.. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. ***Physiol. Plant.*** v.126, p.45-51, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TAO, J.K. The 1978 refree test for soybean and corn. ***AOSA Newsletter***, v. 35, n. 4, p. 43-66, 1978.

THOMASHOW, M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. ***Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol***, v..50, p. 571–59, 1999.

TIMÓTEO, T.S.; MARCOS-FILHO, J. Seed performance of different corn

genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, v.35, p.207-215, 2013.

TOLEDO, F. F.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P.; MASCHIETTO, R. W. Vigor de sementes de milho (*Zea mays* L.) avaliado pela precocidade de emissão da raiz primária. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 191-196, 1999.

TORRES, S.B.; SILVA, M.A.S.; CARVALHO, I.M.S.; QUEIROZ, M.A. Correlação entre testes de vigor em sementes de maxixe. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.34, n.6, p.1075-1080, jun. 1999.

TUNES, L.M.; VILLELA, F.A. Alternativas metodológicas do teste de envelhecimento acelerado em sementes de coentro. **Ciência Rural**, v.46, n.1, p.95-99, 2016.

VIEIRA, R.D.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R.F.; SEDIYAMA, C.S.; THIÉBAUT, J.T.L.; XIMENES, P.A. Estudo da qualidade fisiológica de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], cultivar UFV-1, em quinze épocas de colheita. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília. Anais... Londrina: Embrapa-CNPSo, 1982. v.1, p.633-644.

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

WONG, D.H.; BARBETTI, M.J.; SIVASITHAMPARAM, K. Effects of soil temperature and moisture on the pathogenicity of fungi associated with root rot of subterranean clover. **Australian journal Agricultural Research**, v. 35, p. 675-684, 1984.

ZINI, P. B. Qualidade de sementes de porongo: condicionamento fisiológico associado a inseticidas e teste de frio. 2018. 53 f. Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria,

Santa Maria. 2018.