

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

MARIANA BERTONCINI PEIXOTO DA SILVA

**O ALTO VIGOR DE SEMENTES DE MILHO PROMOVE A SUPERAÇÃO DE
ESTRESSE POR ALTA TEMPERATURA EM FUNÇÃO DO METABOLISMO DE
CARBOIDRATOS**

LAGES

2024

MARIANA BERTONCINI PEIXOTO DA SILVA

**O ALTO VIGOR DE SEMENTES DE MILHO PROMOVE A SUPERAÇÃO DE
ESTRESSE POR ALTA TEMPERATURA EM FUNÇÃO DO METABOLISMO DE
CARBOIDRATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na linha de pesquisa Fisiologia e manejo de plantas.

Orientadora: Prof. Dra. Cileide Maria Medeiros Coelho

LAGES

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Silva, Mariana Bertoncini Peixoto da

O alto vigor de sementes de milho promove a superação de estresse por alta temperatura em função do metabolismo de carboidratos / Mariana Bertoncini Peixoto da Silva. -- 2024.
72 p.

Orientadora: Cileide Maria Medeiros Coelho

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2024.

1. Açúcares solúveis. 2. Envelhecimento acelerado. 3. Fisiologia de sementes. 4. Amilases. 5. Zea mays. I. Coelho, Cileide Maria Medeiros. II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. III. Título.

MARIANA BERTONCINI PEIXOTO DA SILVA

O ALTO VIGOR DE SEMENTES DE MILHO PROMOVE A SUPERAÇÃO DE ESTRESSE POR ALTA TEMPERATURA EM FUNÇÃO DO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na linha de pesquisa Fisiologia e manejo de plantas.

Orientadora: Prof. Dra. Cileide Maria Medeiros Coelho

BANCA EXAMINADORA

Orientadora:



Documento assinado digitalmente
CILEIDE MARIA MEDEIROS COELHO ARRUDA DE
Data: 20/05/2024 19:42:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Cileide Maria Medeiros Coelho

Membros:



Documento assinado digitalmente
Marcelo Maraschin
Data: 20/05/2024 20:45:08-0300
CPF: ***.759.469-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Marcelo Maraschin



Documento assinado digitalmente
NATALIA CAROLINA MORAES EHRHARDT BROCARD
Data: 21/05/2024 11:55:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Natalia Carolina Moraes Ehrhardt-Brocardo

Lages, 16 de fevereiro de 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, que fez com que eu me sentisse capaz de realizar qualquer coisa que eu colocasse minha atenção. Aos meus pais, Fabiana e Peixoto, que sempre me deram imenso apoio, de diversas formas, pelo companheirismo e por acreditarem em mim. Ao meu companheiro, Gustavo, que foi o meu porto seguro, sempre me incentivou e me ajudou a superar momentos difíceis. Amo muito vocês!

À minha orientadora, Cileide Maria Medeiros Coelho, pela orientação, paciência, e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos colegas de laboratório pela convivência, auxílio nas atividades e amizade durante esse período, principalmente Yasmin, Matheus, Jaqueline, Cristiane e Natali.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Marcelo Maraschin e Dra. Natalia Carolina Moraes Ehrhardt-Brocardo, agradeço por terem aceitado o convite e por todas as contribuições feitas nesta dissertação.

À UDESC e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias pelo suporte e qualidade de ensino.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para a minha formação, crescimento profissional e pessoal durante essa trajetória.

Muito, muito obrigada! Por tudo!

RESUMO

O milho é o cereal mais cultivado do mundo. Em condições estressantes, a utilização de sementes de alto vigor é uma alternativa relevante para reduzir as perdas de produtividade, pois essas sementes têm a habilidade de germinar em ampla faixa de condições ambientais. No entanto, é necessário entender quais são as estratégias bioquímicas adotadas por sementes de alto vigor para atingirem melhor desempenho em períodos de estresse. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar alterações no metabolismo de sementes de alto e baixo vigor, com base na redução de amido (atividade de enzimas hidrolíticas, teor de açúcares solúveis, amido e oligossacarídeos) e no sistema antioxidante (EROs, enzimas e componentes antioxidantes) sob estresse por alta temperatura e umidade. O trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, foram identificadas diferenças entre sementes de alto e baixo vigor submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado quanto à tolerância ao estresse, redução de amido e metabolismo antioxidante. Sementes de alto vigor superaram melhor as condições de estresse, sendo que neste lote a atividade de α -amilase e disponibilidade de açúcares solúveis foi superior, indicando que a melhor redução de amido e maior quantidade de açúcares são fatores estratégicos para a melhor tolerância e desempenho das sementes de alto vigor. No segundo capítulo, as sementes de vigor contrastante foram avaliadas quanto ao metabolismo de carboidratos durante a germinação em duas condições: controle e 60 horas de estresse por alta temperatura e umidade. As sementes de alto vigor apresentaram maior consumo de rafinose na condição de estresse durante a germinação, sendo que o estresse causou redução nas atividades de α -amilase e no teor de sacarose no T50 (quando mais de 50% das sementes atingiram a protrusão). Sementes de baixo vigor aumentaram em 152% a atividade de β -amilase no tempo inicial. Com base nos resultados apresentados foi possível observar algumas estratégias adotadas pelas sementes de alto vigor para a superação de estresses e produção de plântulas normais de forma mais rápida e uniforme, sendo elas a maior disponibilidade de açúcares solúveis totais maior atividade de alfa-amilase em condições extremas de estresse e a capacidade maior de consumo de rafinose. Assim, se faz necessária a realização de pesquisas futuras no intuito de identificar açúcares específicos atuantes na diferenciação do vigor das sementes, além de avaliar a expressão diferencial de isoenzimas que atuam da hidrólise de amido.

Palavras-chave: Açúcares solúveis, Amilases, Envelhecimento acelerado, Fisiologia de sementes, *Zea mays*.

ABSTRACT

Maize is the most cultivated cereal in the world. In stressful conditions, the use of high vigor seeds is a relevant alternative to reduce losses, as they can germinate in a wide range of environmental conditions. However, it is necessary to understand the biochemical strategies adopted by high vigor seeds to achieve better performance in periods of stress. In this sense, the objective of this work is to determine changes in the metabolism of high and low vigor seeds, based on the reduction of starch (activity of hydrolytic enzymes, content of soluble sugars, starch, and oligosaccharides) and in the antioxidant system (ROS, enzymes, and antioxidant components) under high temperature and humidity stress. The research was divided into two chapters. In the first chapter, differences were identified between seeds of high and low vigor subjected to different periods of stress due to aging in terms of tolerance, starch reduction and antioxidant metabolism. High vigor seeds overcame stress conditions better, and in this lot the α -amylase activity and availability of soluble sugars were higher, indicating that better starch reduction and greater quantity of sugars are strategic factors for better tolerance and performance of high vigor seeds. In the second chapter, contrasting vigor seeds were evaluated in terms of carbohydrate metabolism during germination in two conditions: control and 60 hours of stress with high temperature and humidity. High vigor seeds showed a greater raffinose consume under stress conditions during germination, with stress causing a reduction in alpha-amylase activities and sucrose content at T50 (when more than 50% of the seeds reached protrusion) for both lots. Low vigor seeds increased β -amylase activity by 152% at initial time. Based on the results presented, it was possible to observe some strategies adopted by high vigor seeds to overcome stress and produce normal seedlings more quickly and uniformly, these being the greater amount of total soluble sugars, greater alpha-amylase activity under extreme stress conditions and a greater capacity to consume raffinose. Therefore, it is necessary to carry out future research to identify specific sugars involved in differentiating seed vigor, in addition to evaluating the differential expression of isoenzymes that act in starch hydrolysis.

Keywords: Accelerated aging, Amylases, Seed physiology, Soluble sugars, *Zea mays*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do metabolismo de hidrólise de amido em sementes.....	22
Figura 2 - Desempenho fisiológico de plântulas oriundas de lote de semente de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado.....	34
Figura 3 - Condutividade elétrica e açúcares solúveis totais do lixiviado de lotes de semente de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado.	34
Figura 4 - Atividade de α -amilase, açúcares solúveis totais da semente, atividade de catalase, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica de lotes de semente de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado.....	37
Figura 5 - Quantificação de prolina e carotenoides de plântulas oriundas de lotes de semente de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado.	38
Figura 6 - Desempenho fisiológico de plântulas oriundas de lote de semente de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas).	49
Figura 7 - Uso e mobilização de reservas de sementes de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas)..	52
Figura 8 - Atividade de α -amilase, β -amilase e α -glucosidase, açúcares solúveis totais, porcentagem de amido e teor de sacarose e rafinose de sementes de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas), logo após o período de estresse.	54
Figura 9 - Atividade de α -amilase, β -amilase e α -glucosidase, açúcares solúveis totais, porcentagem de amido e teor de rafinose e sacarose de sementes de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas), em protrusão de raiz (T50).....	57
Figura 10 – Atividade de α -amilase, β -amilase e α -glucosidase, açúcares solúveis totais e porcentagem de amido de sementes de alto vigor (AV) e baixo vigor (BV) com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas), 4 dias após a semeadura.....	59

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Germinação e vigor de lotes de alto (AV) e baixo vigor (BV) a partir dos parâmetros de porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC) envelhecimento acelerado (EA) e índice de vigor (IV)..... 32
- Tabela 2 - Resumo do quadro de análise de variância para a comparação a partir dos parâmetros de porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC) envelhecimento acelerado (EA+) e índice de vigor (IV) entre lotes de alto e baixo vigor. 69
- Tabela 3 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de plântulas normais (N), anormais (AN), e mortas (M), índice de vigor (IV), condutividade elétrica (COND) e açúcares solúveis totais do lixívia lixiviado (ASTLIX) de lotes de semente de alto e baixo vigor submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado. 69
- Tabela 4 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de α -amilase (α -AMI), teor de açúcares solúveis totais, atividade de catalase (CAT), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica (MDA), prolina (PROL), carotenoides (CAROT) de lotes de semente de alto e baixo vigor submetidas a diferentes períodos de estresse por envelhecimento acelerado. 69
- Tabela 5 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de plântulas normais (N), anormais (AN), e mortas (M), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR) de lotes de sementes de alto e baixo vigor com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas). 71
- Tabela 6 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de massa seca total de plântula (MST), massa seca restante no endosperma (MSRE), redução de reservas da semente (RRS), taxa de redução de reservas da semente (TRRS), taxa de mobilização de reservas da semente (EURS), gasto metabólico em mg (GM) e gasto metabólico em porcentagem (GM (%)) de lotes de sementes de alto vigor e baixo vigor com e sem estresse por alta temperatura e umidade (60 horas). 71
- Tabela 7 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de atividade de α -amilase (α -AMI), β -amilase (β -AMI) e α -glucosidase (α -GLUC), teor de açúcares solúveis totais (AST), amido (AMIDO), sacarose (SAC) e rafinose (RAF) de lotes de sementes de alto e baixo vigor com e sem estresse por alta temperatura e umidade, logo após o período de estresse. 71

Tabela 8 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de atividade de α -amilase (α -AMI), β -amilase (β -AMI) e α -glucosidase (α -GLUC), teor de açúcares solúveis totais (AST), amido (AMIDO), sacarose (SAC) e rafinose (RAF) de lotes de sementes de alto e baixo vigor com e sem estresse por alta temperatura e umidade, em protrusão de raiz (T50).....72

Tabela 9 - Resumo do quadro de análise de variância para valores de atividade de α -amilase (α -AMI), β -amilase (β -AMI) e α -glucosidase (α -GLUC), teor de açúcares solúveis totais (AST) e amido (AMIDO) de lotes de sementes de alto vigor e baixo vigor com e sem estresse por alta temperatura e umidade, 4 dias após a semeadura.72

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2.1 IMPORTÂNCIA DO MILHO.....	15
2.2 A QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO.....	16
2.2.1 Entendimento do vigor de sementes	17
2.2.2 Vigor e deterioração de sementes	18
2.3 VIGOR DE SEMENTES E ESTRESSES ABIÓTICOS.....	19
2.3.1 Componentes bioquímicos da superação do estresse	20
2.3.1.1 <i>Metabolismo de carboidratos</i>	20
2.3.1.2 <i>Metabolismo antioxidante</i>	23
3. COMPONENTES BIOQUÍMICOS SÃO DETERMINANTES PARA DESEMPENHO SUPERIOR DE PLÂNTULAS EM SEMENTES DE MILHO DE ALTO VIGOR SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE POR ENVELHECIMENTO ACELERADO	25
3.1 INTRODUÇÃO	25
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.4 CONCLUSÃO	39
4. A REDUÇÃO E USO DE RESERVAS EM SEMENTES APÓS A SUBMISSÃO A ESTRESSE POR ALTA TEMPERATURA E UMIDADE EXPLICAM O MELHOR DESEMPENHO DE SEMENTES DE ALTO VIGOR	41
4.1 INTRODUÇÃO	41
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.4 CONCLUSÃO	60
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	63
APÊNDICE A – TABELAS DE ANOVA DAS VARIÁVEIS DO CAPÍTULO 1	69
APÊNDICE B – TABELAS DE ANOVA DAS VARIÁVEIS DO CAPÍTULO 2	71

1 INTRODUÇÃO

O milho é uma cultura de grande importância, sendo o cereal mais produzido do mundo. De 2000 a 2020, a produção mundial praticamente dobrou (FAOSTAT, 2022). No Brasil, a previsão para a safra atual (2023/24) é da produção de 118 milhões de toneladas, com produtividade de 5,6 toneladas por hectare, se tratando do segundo grão mais produzido no país (CONAB, 2023). O aumento da produção e produtividade nos últimos anos se deve ao processo de tecnificação da cultura do milho, com o uso de tecnologias e insumos mais eficientes, tornando seu cultivo altamente produtivo e rentável (CONTINI et al., 2019). Conseqüentemente, este aumento impulsiona a demanda por sementes de alta qualidade, principalmente no quesito fisiológico, visando a estabilidade da produtividade (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2016).

A avaliação da qualidade fisiológica é fundamental na caracterização de um lote de sementes, pois é um fator determinante do estande inicial de uma lavoura. Dentro da qualidade fisiológica, o vigor é uma característica muito importante, pois definirá o desempenho da plântula sob condições ótimas ou estressantes de desenvolvimento (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2016; MARCOS-FILHO, 2015).

O estresse é entendido como qualquer alteração no meio em que o vegetal está inserido, que afete o seu crescimento e desenvolvimento. É uma condição que pode acontecer em qualquer fase do ciclo da planta, podendo ser de diversas naturezas, bióticas ou abióticas. A temperatura e umidade são dois dos principais fatores abióticos estressantes, afetando uma série de processos metabólicos na semente, como a respiração e atividade de enzimas (TAIZ et al., 2017). No desenvolvimento inicial, a principal consequência do estresse consiste na redução da velocidade, uniformidade e porcentagem de emergência, o que causa a redução do potencial produtivo da lavoura e aumento do ciclo da cultura (MARCOS FILHO, 2015; REED et al., 2022).

Sementes de alto vigor superam melhor condições estressantes de ambiente durante a emergência pois apresentam melhor capacidade de germinação nestas condições (MARCOS FILHO, 2015). Assim, a utilização de sementes de alto vigor é indispensável para obter altos potenciais produtivos, sobretudo em condições adversas.

O envelhecimento acelerado é um teste de vigor muito utilizado para diversas culturas (MARCOS FILHO, 2020). Seu princípio é com base na submissão das sementes à alta temperatura (41 a 45 °C) e umidade relativa saturada. Este teste avalia o potencial das sementes de produzir plântulas normais em condições diferentes das ideais observadas no teste de

germinação. Devido a intensidade das condições estressantes, pode ser utilizado para sementes das mais diversas espécies, de inverno ou verão, podendo também ser utilizado para identificar diferenças fisiológicas e bioquímicas entre lotes de níveis de vigor contrastantes ao longo da deterioração (ANDRADE; COELHO; UARROTA, 2020; DELOUCHE; BASKIN, 1973).

O conceito de vigor é estabelecido basicamente como a soma de todos os atributos da semente que favorecem o estabelecimento rápido e uniforme de uma população inicial no campo (DELOUCHE; CALDWELL, 1960). O entendimento de como o vigor de sementes afeta o desempenho em condições de estresse ainda não foi totalmente desvendado. Assim, o desenvolvimento de estudos em laboratório sob condições de estresse em sementes de vigor contrastante pode elucidar as estratégias utilizadas por sementes de alto vigor na superação destas condições. Para tanto, é necessária a avaliação bioquímica das sementes, em processos metabólicos e componentes afetados pelas condições de estresse. A utilização de sementes do mesmo genótipo nas comparações entre níveis de vigor é fundamental para evitar o efeito do genótipo sobre a expressão do vigor.

Durante a germinação, ocorre a hidrólise e mobilização de reservas da semente para a produção de energia e tecidos, formando a plântula. Os carboidratos, principalmente o amido, são o principal componente de reserva das sementes de milho (BEWLEY et al., 2013). A avaliação do metabolismo dos carboidratos em sementes com níveis de vigor contrastante pode ser uma estratégia para auxiliar na explicação de quais são os mecanismos bioquímicos utilizados pelas sementes de alto vigor, para superar estresses abióticos (ANDRADE; COELHO; UARROTA, 2020; HEBERLE et al., 2019; NERLING; COELHO; BRUMMER, 2018). Por isso, é importante avaliar os substratos, as enzimas, e os produtos do processo metabólico, além de outros compostos que tenham efeito na expressão de vigor.

Durante o envelhecimento acelerado, o estresse oxidativo causado pela acumulação de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode causar danos às membranas celulares, e outros componentes das células, afetando o processo germinativo (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019). Assim, a avaliação dos componentes do sistema antioxidante (EROs, enzimas e componentes antioxidantes) pode indicar diferenças na capacidade protetiva a danos entre sementes de vigor contrastante (ANDRADE, 2019).

Diante do exposto, o objeto de estudo desta pesquisa são sementes de milho híbrido de vigor contrastante submetidos ao estresse por envelhecimento acelerado para entender quais são as estratégias utilizadas pelas sementes de alto vigor para superar esta condição. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar alterações no metabolismo de sementes de alto e baixo vigor, com base na redução de amido (atividade de enzimas hidrolíticas, teor de açúcares

solúveis, amido e oligossacarídeos) e no sistema antioxidante (EROs, enzimas e componentes antioxidantes) sob estresse por alta temperatura e umidade.

Esta dissertação foi dividida em dois capítulos, o capítulo I tem por objetivo avaliar a tolerância de sementes de milho de vigor contrastante submetidas a diferentes níveis de estresse por envelhecimento acelerado e verificar se as diferenças no metabolismo antioxidante e de redução de amido explicam as diferenças entre os níveis de vigor. O Capítulo II objetivou avaliar o metabolismo de carboidratos de sementes de alto vigor na superação do estresse por alta temperatura e umidade para a formação de plântulas vigorosas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 IMPORTÂNCIA DO MILHO

O milho (*Zea mays*) é o cereal mais produzido do mundo, sendo produzido em diversos ambientes, do Canadá (extremo norte) à Argentina (extremo sul) (FAOSTAT, 2022; GARCÍA-LARA; SERNA-SALDIVAR, 2019). Sua alta produção se deve à versatilidade do grão, que é utilizado na alimentação humana e animal, além da produção de biocombustíveis. Originado no México e derivado do teosinto, hoje apresenta alta produtividade devido a muitos anos de aumento de eficiência de produção, melhoramento genético, biotecnologia e o uso de híbridos (PEREIRA FILHO; BORGHI, 2022).

A tecnificação dos sistemas de produção de milho permitiu muitos avanços, sendo que, ao longo dos últimos anos, sua produção tem aumentado significativamente. Como exemplo, na safra brasileira de 2010/2011 a produção foi de 57,4 milhões de toneladas, e a última safra (2022/2023) passou de 131 milhões de toneladas (CONAB, 2023). A produtividade média brasileira do grão também tem evoluído, passando de 4,3 para 5,9 toneladas por hectare no mesmo período. Assim, para acompanhar a demanda, a produção de sementes comerciais também aumentou, praticamente dobrando de 2010 à 2021 (MAPA, 2022).

O aumento expressivo na produção de sementes se deve à alta taxa de utilização de sementes comerciais certificadas, que na safra 2020/2021 atingiu 91% no Brasil (ABRASEM, 2022). Isso significa que a maioria dos produtores de milho utilizam sementes de qualidade e identidade garantidas, atributos imprescindíveis para o sucesso de uma lavoura.

A produção de sementes de milho tem alto custo, principalmente as cultivares híbridas. Porém, este custo se paga no desempenho destas sementes, promovendo altas produtividades. Sementes de alta qualidade são necessárias para favorecer a formação de um estande adequado de plantas, fator determinante para a produção de várias culturas (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015), principalmente no caso da cultura do milho, que tem baixa prolificidade e plasticidade fenológica (SANGOI et al., 2016). Muitos estudos confirmam que a qualidade fisiológica em sementes de milho é altamente controlada pelo genótipo (COSTA SILVA NETA et al., 2020; NERLING; COELHO; BRUMMER, 2018; PRAZERES; COELHO, 2016a; PRAZERES; COELHO, 2016b). Sementes de diferentes genótipos apresentam variações em uma série de atributos que interferem no vigor de sementes, como o teor de componentes importantes para a expressão do vigor, resistência a estresses e alterações metabólicas (NERLING; COELHO;

BRUMMER, 2022). Devido ao alto controle do genótipo, o milho pode ser um ótimo modelo de estudo bioquímico no entendimento do vigor de sementes.

2.2 A QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO

A qualidade de sementes é um conjunto de atributos que determina o desempenho potencial de um lote. Estes atributos são o genético, físico, sanitário e o fisiológico (MARCOS FILHO, 2020b).

A qualidade genética se refere à origem da semente, sendo que todas as sementes de um lote devem ter a mesma origem genética para serem consideradas de alta qualidade, não possuindo misturas de cultivares e com alta estabilidade genética. Com relação à qualidade física, se refere à ausência de danos físicos nas sementes, material inerte ou de sementes de outras espécies cultivadas ou daninhas presentes no lote. A qualidade sanitária refere-se à ausência de pragas e/ou doenças infectando ou infestando as sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Já a qualidade fisiológica, foco desta pesquisa, engloba a germinação e o vigor de um lote. Este atributo é o conjunto de características que possibilita a avaliação do potencial da semente gerar uma plântula normal sob diferentes condições ambientais. A qualidade fisiológica é um atributo muito explorado na pesquisa, por se tratar do potencial concreto de formação do estande de plantas, fator de prioridade na escolha de um lote de sementes de uma determinada cultivar (MARCOS FILHO, 2020b).

A avaliação da porcentagem de germinação tem a função de determinar o potencial máximo de germinação de um lote, sendo realizada em condições ótimas, especificadas para cada espécie nas Regras Para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Portanto, por serem utilizadas condições ótimas de desenvolvimento, pode não apresentar alta correlação com a emergência de plântulas a campo (GILL; DELOUCHE, 1973). Neste sentido, a avaliação do vigor traz informações mais precisas sobre o estado metabólico da semente, dependendo do tipo de análise realizada.

Existem vários testes que podem ser feitos para avaliar o vigor de sementes. Estes testes são divididos em físicos, fisiológicos, bioquímicos ou de resistência. Os testes físicos avaliam aspectos morfológicos ou físicos das sementes, como tamanho, densidade e peso unitário. Os testes fisiológicos verificam o desempenho de plântulas, por meio da avaliação da primeira contagem de germinação, taxa de mobilização de reservas, velocidade de germinação, entre

outros. Os testes bioquímicos avaliam processos ou componentes bioquímicos que ocorrem nas sementes, podendo ser mensurado através dos testes de tetrazólio, condutividade elétrica e as avaliações enzimáticas. Nas avaliações de resistência, as condições em que as sementes são colocadas são adversas, sendo que a semente deve apresentar sua capacidade de superar estas condições e germinar. A exemplo, existe o teste de envelhecimento acelerado e o teste de frio (MARCOS FILHO, 2015).

No caso do teste de vigor por envelhecimento acelerado (EA), as sementes são submetidas à alta temperatura e umidade, e após é realizado um teste de germinação para identificar a resposta das sementes ao estresse (MARCOS FILHO, 2020a). Geralmente, os testes de vigor têm mais correlação com a emergência de plântulas a campo (MARCOS FILHO, 2020b). Reis et al. (2022), utilizando cinco lotes de sementes com vigor diferente, constataram que a utilização de sementes de milho de baixo vigor interfere no desenvolvimento inicial, produtividade e cobertura do solo, sendo que para cada ponto percentual a mais de vigor do lote (por teste de frio) a produtividade por aumentar até 43,5 kg por hectare. Sbrussi e Zucarelli (2014) observaram que em temperaturas supra-ótimas durante a germinação (até 40°C), lotes de sementes de milho de alto vigor apresentaram maior potencial germinativo.

2.2.1 Entendimento do vigor de sementes

O vigor é um atributo multigênico e depende de vários fatores associados ao processo de formação da semente, sendo que alguns destes fatores são ainda pouco conhecidos. No caso do milho, durante o processo de formação da semente são acumuladas proteínas, lipídeos, compostos minerais e principalmente carboidratos, que atuarão em conjunto para que o processo de germinação aconteça. As enzimas, muito importantes no processo de degradação destes compostos para a produção de energia e tecidos também são acumuladas, porém só são ativadas no processo de germinação (BEWLEY et al., 2013).

Para entender quais componentes do metabolismo explicam as diferenças no vigor de sementes, é necessário avaliar quais são os mecanismos bioquímicos e fisiológicos diferenciais entre sementes de alto e baixo vigor. A partir disso, pode-se indicar marcadores bioquímicos ligados ao maior vigor de sementes. Os marcadores bioquímicos consistem em componentes celulares, estruturais ou bioquímicos que definem alterações em determinados processos, sendo, neste caso, o vigor de sementes. Estes marcadores podem auxiliar no acompanhamento do vigor de sementes desde fases iniciais do melhoramento vegetal, além da verificação da

resistência dos genótipos às condições estressantes e então melhorar sua tolerância ao estresse. Assim, o entendimento do vigor de sementes passa pela avaliação dos componentes das sementes, tendo em vista que eles desempenham papel fundamental na germinação.

2.2.2 Vigor e deterioração de sementes

O vigor está intimamente ligado com o estado de deterioração da semente. A máxima qualidade é atingida na maturidade fisiológica, ainda no campo. Após a maturidade fisiológica, a semente fica propensa a ter sua qualidade reduzida por meio de diversos processos degenerativos, que vão da perda de integridade de membranas à morte da semente, sendo este processo chamado de deterioração. A intensidade da deterioração depende de inúmeros fatores, como as condições, o tempo de armazenamento e o estado inicial da semente (condições de produção e composição da semente) (MARCOS FILHO, 2015). Assim, à medida em que a deterioração avança, estes processos afetam a germinação e o vigor.

Por meio da associação do vigor com a deterioração de sementes, é possível afirmar que sementes com alto vigor têm maior capacidade de armazenamento. Durante o período de armazenamento, inevitavelmente a semente passa por processos fisiológicos de deterioração, principalmente pela eventual variação de temperatura e umidade, causando um estresse degenerativo (DELOUCHE, 1963; MARCOS FILHO, 2015). A deterioração ao longo do armazenamento causa comumente a redução na velocidade de germinação e até a perda de viabilidade de sementes, com intensidade dependente das condições de armazenamento e do vigor inicial (BHANDARI et al., 2017; DUBAL et a., 2022; MARCOS FILHO, 2015). Para associar o efeito da deterioração ao vigor de sementes, pode ser utilizado o envelhecimento acelerado, que causa o estresse e a deterioração similar ao que ocorre naturalmente (DELOUCHE; BASKIN, 1973).

Utilizando a condição de envelhecimento acelerado como fonte de deterioração, foram realizados diversos estudos que associam o vigor à deterioração. Andrade (2019), utilizando este método para comparar dois lotes de sementes de vigor contrastante, constatou que as sementes de milho de baixo vigor sofreram maiores danos e apresentaram menor qualidade fisiológica. Sommer (2022), utilizando sementes artificialmente envelhecidas, observou redução da germinação e emergência de plântulas a campo em comparação às sementes que não passaram pelas condições de EA. O envelhecimento acelerado causou a redução da germinação e aumento do tempo médio de germinação em vários híbridos submetidos a até 6

dias de envelhecimento acelerado a 40°C em pesquisa desenvolvida por Mansouri-Far et al. (2015). Xu et al. (2022), utilizando períodos maiores de envelhecimento acelerado reduziram drasticamente a viabilidade de sementes de duas cultivares. Assim, as diferenças de qualidade fisiológica observadas nestes trabalhos podem ser explicadas por diferenças bioquímicas e metabólicas entre sementes de vigor contrastante quando submetidas ao estresse e à deterioração.

2.3 VIGOR DE SEMENTES E ESTRESSES ABIÓTICOS

O estresse é conceituado como qualquer condição ou situação que impeça a planta de atingir o seu potencial genético pleno. Assim, diante do estresse a planta tende a ter seu crescimento e desenvolvimento afetado (TAIZ et al., 2017). No caso das sementes, o estresse geralmente causa redução na velocidade, uniformidade e porcentagem de emergência. O estresse pode ser biótico, em que o causador é um patógeno ou uma praga, ou abiótico, que são fatores ambientais.

O estresse abiótico em sementes pode advir de diversas fontes, como o estresse térmico, hídrico, salino e por anoxia (RHAMAN et al., 2020). As condições de envelhecimento acelerado combinam o estresse por alta temperatura e alta umidade relativa, que causa a deterioração da semente através de uma série de processos metabólicos afetados por estes dois fatores (MARCOS FILHO, 2015). Por isso, estas condições são utilizadas para estudar as respostas que ocorrem durante a deterioração (ANDRADE; COELHO; UARROTA, 2020; DELOUCHE; BASKIN, 1973).

O uso de sementes de alto vigor pode interferir nas respostas das plantas a estresses abióticos, principalmente no desenvolvimento inicial (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015). Reis et al. (2022) demonstraram que o uso de sementes de milho de alto vigor promove o desenvolvimento inicial, cobertura do solo e componentes da produtividade, além de reduzir o ciclo da cultura. Estudos reportam que o uso de sementes de alto vigor pode aumentar em até 25% a eficiência de uso da água das plantas (FAGERIA; BALIGAR; CLARK, 1994).

Tendo em vista isso, entender quais são as estratégias associadas ao melhor desempenho de plântulas advindas de sementes de alto vigor, sobretudo durante a superação de estresses abióticos é fundamental para estabelecer marcadores bioquímicos de vigor e auxiliar na seleção e melhoramento vegetal para genótipos de alto vigor (ANDRADE; COELHO; UARROTA, 2020; NERLING; COELHO; BRUMMER, 2018). Assim, alguns componentes do metabolismo

das sementes podem desvendar estas estratégias utilizadas, como na hidrólise e mobilização de reservas e a dinâmica do sistema antioxidante.

Ebone, Caverzan e Chavarria (2019) indicam quatro eventos bioquímicos que causam os efeitos da perda de vigor por deterioração: a perda da capacidade protetiva contra espécies reativas de oxigênio, danos na membrana plasmática, consumo de reservas e danos ao material genético. Assim, propõe-se que o diferencial das sementes de alto vigor ocorre justamente nestes processos metabólicos.

Diversos estudos utilizando estresses abióticos como o hídrico e o salino também observaram esta característica de superioridade das sementes de alto vigor na superação destas condições. Liu et al. (2015) associaram a superioridade das sementes de maior vigor à melhor capacidade de realizar a regulação osmótica quando submetidas a estresse hídrico. Prazeres, Coelho e Souza (2021), utilizando sementes de milho de vigor contrastante, concluíram que a superioridade das sementes de alto vigor ao estresse hídrico advém da atividade antioxidante mais eficiente e maior mobilização de proteínas na fase inicial da germinação. No estudo dos efeitos do estresse salino em sementes de alto e baixo vigor, Sommer (2022) obteve menor taxa de mobilização de reservas em sementes de baixo vigor em relação às sementes de alto vigor, indicando que o dano sofrido por estas sementes foi maior pela menor capacidade de tolerar as condições de estresse.

2.3.1 Componentes bioquímicos da superação do estresse

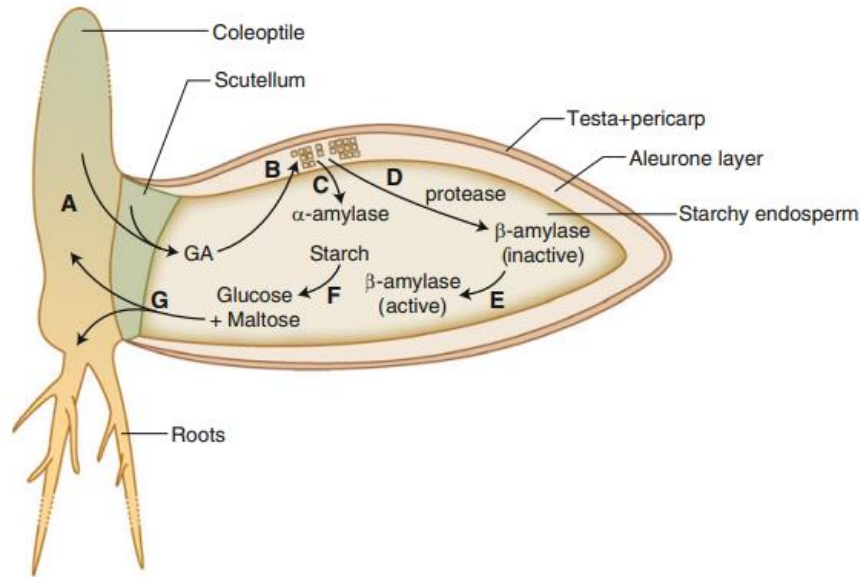
2.3.1.1 Metabolismo de carboidratos

A semente de milho é composta principalmente por amido. No processo de formação da semente, o amido e outros carboidratos são acumulados com a função de prover reservas de energia para a semente. Porém, no processo germinativo, o amido por si só não pode ser utilizado diretamente no metabolismo energético, por ser uma molécula extremamente polimerizada. Assim, é preciso que enzimas hidrolíticas atuem na hidrólise do amido para formar moléculas menores (BEWLEY et al., 2013).

O amido é um carboidrato altamente polimerizado, formado por cadeias longas de glucose com ligações α 1 \rightarrow 4 e pontos ramificados, onde são usadas ligações α 1 \rightarrow 6 (TAIZ et al., 2017). Em sementes de milho, o endosperma amiláceo não possui células vivas e por isso não possui enzimas capazes de hidrolisar o amido, sendo necessário que haja a secreção de

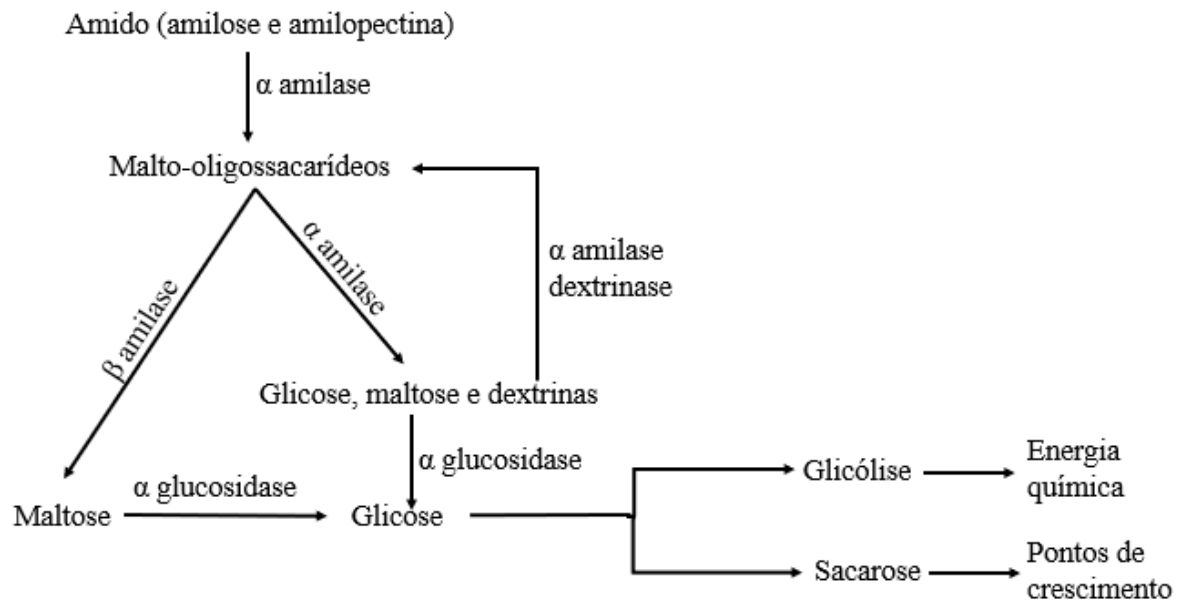
enzimas hidrolíticas pela camada de aleurona para que ocorra a hidrólise (MARCOS FILHO, 2015). Esta secreção é ativada no início da germinação, através da entrada de água na semente que causa uma cascata de processos fisiológicos, culminando na hidrólise de reservas e retomada de crescimento do embrião (Figura 1).

Figura 1 - Esquema generalizado de um grão de cevada exemplificando as relações entre a camada de aleurona, endosperma e o eixo embrionário das sementes durante a hidrólise de reservas para a formação de plântulas. Fonte: Bewley et al., 2013.



A principal enzima que atua na hidrólise de amido é a α -amilase (1,4-a-D-Glucan glucanohidrolase, EC 3.2.1.1, pH e temperatura ótimos a 5,0 e 70°C). Ela faz a hidrólise das ligações glicosídicas 1→4 entre as moléculas de glucose aleatoriamente e sucessivamente ao longo das cadeias gerando malto-oligossacarídeos, dextrina, maltose e glucose (endoamilase). Outra enzima que atua na hidrólise do amido é a β -amilase (EC 3.2.1.2., pH e temperatura ótimos de 5,0 e 30°C), que, como uma exoamilase, não atua diretamente nos grânulos inteiros de amido, mas que produz maltose a partir das extremidades não redutoras dos oligossacarídeos previamente produzidos pela α -amilase. Para hidrolisar a maltose produzida pela α e β -amilase até glucose, é necessária a atuação da enzima α -glucosidase (EC 3.2.1.20, pH e temperatura ótimas a 5,0 e 37°C), também conhecida como maltase (BEWLEY et al., 2013). A partir disso, a glucose gerada pela hidrólise de amido tem dois caminhos possíveis: a glicólise para a produção de ATP e a síntese de sacarose e translocação para as regiões de crescimento (embrião) (MARCOS FILHO, 2015) (Figura 1).

Figura 2 - Esquema do metabolismo de hidrólise de amido em sementes.



Fonte: Adaptado de Marcos Filho (2015) e Bewley et al (2013).

Devido a este processo, estas enzimas estão ligadas com a disponibilização de energia para o processo de germinação. A enzima α -amilase já foi muito estudada em sua relação com o vigor de sementes (FRIES et al., 2007; HEBERLE et al., 2019; NAGUIB; ABDALLA, 2020; PADILHA; COELHO; EHRHARDT-BROCARD, 2021). Porém, faltam informações referentes à participação de outras enzimas que atuam neste processo de hidrólise e que podem interferir no vigor de sementes.

A β -amilase em cereais tem sua importância muito questionada, pois existem algumas cultivares de cevada e arroz que não têm atividade dessa enzima em sementes (BEWLEY et al., 2013; YAMAGUCHI et al., 1999). Porém, por degradar o amido, assim como a α -amilase, e por gerar produto diferente desta, a relação entre a atividade de α e β -amilase pode dar indicativos sobre o vigor de sementes, pois níveis diferentes destas enzimas gerarão relações diferentes de proporções de maltose e glicose disponibilizados para a germinação. A enzima α -glucosidase é de grande importância pois degrada a maltose em glicose, um monossacarídeo utilizado no metabolismo energético através da glicólise (TAIZ et al., 2017).

Também é preciso avaliar estas enzimas ao longo do processo germinativo, pois o tempo necessário para a ativação delas pode influenciar na velocidade de germinação das sementes, tendo em vista que estas enzimas participam do processo. Além disso, a forma de ativação destas enzimas é diferente (BEWLEY et al., 2013).

Alguns açúcares presentes nas sementes apresentam, além da função de disponibilizar energia para o desenvolvimento do embrião, o papel de minimizar a desestruturação das membranas celulares no processo de dessecação da semente, no final de sua formação. São eles a sacarose e os chamados oligossacarídeos da família rafinose (LI et al., 2017).

Estes açúcares atuam na manutenção dos espaços entre os fosfolípidios e proteínas de membrana celular, auxiliando o processo de formação do estado vítreo na dessecação (MARCOS FILHO, 2015). Além disto, segundo Buitink e Leprince (2004), a capacidade da sacarose de formar o estado vítreo depende da rafinose, pois esta evita que ocorra a cristalização da sacarose, que causa a desestabilização o estado líquido-cristalino da membrana.

Li et al. (2017) identificaram e silenciaram o gene *ZmRS* em uma cultivar de milho, que codifica a enzima rafinose sintase, que catalisa a produção de rafinose a partir de galactinol e sacarose. Foram feitas comparações de vigor entre as sementes mutantes e não segregantes. As sementes advindas de plantas mutantes apresentaram menores valores na velocidade de germinação, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas. Além disso, a quantidade de sacarose não foi alterada pela mutação no gene *ZmRS*. Isto indica que a rafinose é um componente importante para o vigor, podendo ser um marcador de alto vigor para sementes de milho. Com base neste trabalho, o vigor de sementes pode ser influenciado pela quantidade destes açúcares na semente.

2.3.1.2 Metabolismo antioxidante

As plantas sofrem estresse durante todo o seu ciclo e a resposta delas a isto é dependente da severidade e duração do estresse. O desbalanço da concentração intracelular das EROs, chamado de estresse oxidativo, é um dos efeitos de vários tipos de estresse (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019). As EROs são formas de oxigênio altamente reativas que são capazes de oxidar uma série de constituintes celulares como proteínas, ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA) e lipídeos. As EROs são produzidas em processos metabólicos muito importantes, como a respiração (na cadeia de transporte de elétrons) e servem também como mensageiros secundários, mediando sinais ambientais e de desenvolvimento. As principais formas de EROs moleculares e radiculares encontradas em plantas são o peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, superóxido e oxigênio singlete, sendo produzidas na mitocôndria e nos plastídeos (TAIZ et al., 2017).

Existem alguns compostos e enzimas que são capazes de atrasar ou inibir os danos oxidativos, evitando os efeitos das EROs. As principais enzimas antioxidantes são a catalase, superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e glutatona peroxidase. Como componentes com ação antioxidante, está a prolina, tocoferol e vitamina C (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019).

A ocorrência de estresse oxidativo está correlacionada com a redução da qualidade fisiológica das sementes. Porém, é importante ressaltar que esta relação somente pode ser feita quando a capacidade de mitigação de EROs por meio dos componentes antioxidantes também é afetada. Quando há aumento da produção de EROs, mas não há aumento dos compostos antioxidantes, ocorre o estresse oxidativo (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019). Assim, a capacidade da semente de ativar a defesa antioxidante é fundamental para evitar os danos do estresse oxidativo.

O excesso de EROs é prejudicial em sementes, pois afeta negativamente diversos processos bioquímicos e metabólicos, tanto na quiescência quanto durante a germinação (CORBINEAU, 2012). Como exemplo, a perda da capacidade de proteção contra EROs causa danos através da peroxidação lipídica e aumento na atividade respiratória. Xu et al., (2022) observaram que o envelhecimento acelerado causou a redução das atividades das enzimas catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase, além do aumento da concentração de peróxido de hidrogênio em sementes de milho.

Sementes de alto vigor tendem a ter um metabolismo antioxidante mais ativo, e conseguem aumentar sua quantidade de componentes antioxidantes para reduzir os danos às sementes quando em condições estressantes. Abreu et al. (2014) observaram que quando submetidas ao estresse hídrico, sementes de linhagens de milho de maior vigor mantiveram a atividade de enzimas antioxidantes. Em pesquisa desenvolvida por Prazeres, Coelho e Souza (2021), a atividade de catalase durante a germinação foi maior em sementes de milho de alto vigor em estresse hídrico, em comparação a sementes de baixo vigor. Utilizando dois híbridos de vigor contrastante em períodos diferentes de estresse por envelhecimento acelerado, Andrade (2020) observou uma atividade antioxidante maior em sementes de alto vigor. Assim, é importante determinar a dinâmica do sistema antioxidante em sementes de vigor contrastante para identificar se há diferenças na concentração de EROs ou mudanças na atividade antioxidante entre estes lotes.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta pesquisa, foi possível identificar as diferenças fisiológicas em sementes de vigor contrastantes quando submetidas ao estresse por alta temperatura e umidade através do envelhecimento acelerado. Os dois lotes de sementes apresentaram redução na qualidade fisiológica quando submetidas a diferentes períodos de estresse. Porém, foi observado um efeito menor do estresse em sementes de alto vigor, pois apresentaram um desempenho superior às sementes de baixo vigor, sobretudo em níveis mais extremos de estresse. Isso confirma que as sementes de alto vigor apresentam maior tolerância ao estresse.

Por meio das análises realizadas foi possível identificar que as sementes de alto vigor apresentaram maior taxa de uso e mobilização de reservas em comparação às sementes de baixo vigor, e este pode ser o motivo do melhor desempenho geral do lote de alto vigor. Assim, observa-se a importância da utilização de sementes de alto vigor para a obtenção de um estabelecimento adequado de plantas, especialmente em situações em que haja a previsão de ocorrência de condições estressantes no desenvolvimento inicial.

Nas comparações bioquímicas nos lotes de vigor contrastante, foram obtidas informações relevantes na dinâmica do metabolismo de carboidratos para o entendimento do vigor de sementes. Foi observada uma participação importante do teor de açúcares solúveis totais no desempenho geral das sementes, em que sementes de alto vigor apresentavam maior teor destes açúcares quando submetidas ao estresse. Também foi observado que as sementes de baixo vigor reduzem o amido em uma menor velocidade, e que este fator pode explicar a menor disponibilização dos açúcares solúveis para os embriões em crescimento, afetando o desempenho de plântulas. Sementes de baixo vigor obtiveram maior atividade de β -amilase logo após o estresse, e a atividade de α -glucosidase também foi maior em 4 DAS, porém este fator não promoveu maior quantidade de açúcares disponíveis. O teor de rafinose em embriões de sementes de alto vigor foi menor na condição de estresse no tempo inicial e T50 em 26 e 48%, respectivamente, indicando que o consumo deste açúcar para esse lote é uma estratégia para a superação de estresse.

Além disso, foi observado que o estresse por envelhecimento acelerado afeta alguns parâmetros do metabolismo de carboidratos, em diferentes períodos da germinação. Nos dois lotes, o estresse afetou negativamente a atividade de α -amilase e teor de sacarose no início da fase 3 da germinação (T50), além de reduzir a disponibilidade de açúcares solúveis totais a 4 DAS.

Com relação ao metabolismo antioxidante, não foram observadas grandes mudanças entre sementes de alto e baixo vigor na produção de peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio ou de algum componente antioxidante, e por isso, no caso deste trabalho, o metabolismo antioxidante não foi determinante nas diferenças de desempenho das sementes.

Com base nos resultados apresentados foi possível observar algumas estratégias adotadas pelas sementes de alto vigor para a superação de estresses e produção de plântulas normais de forma mais rápida e uniforme, como a maior disponibilidade de açúcares solúveis totais independente das condições de estresse, maior atividade de alfa-amilase em condições extremas de estresse, e a dinâmica mais eficiente de consumo de rafinose. Portanto, por meio desta pesquisa e de outras realizadas anteriormente, é possível elencar o teor de açúcares solúveis como um fator de extrema importância na avaliação do vigor de sementes pela sua função durante a germinação. Em programas de melhoramento vegetal, este componente pode ser um recurso para a avaliação de vigor, sendo uma avaliação rápida e de média complexidade.

Assim, as informações obtidas servem como base para a condução de pesquisas futuras para aprofundar o entendimento do vigor através do metabolismo de carboidratos. Pode-se identificar quais açúcares específicos são mais atuantes na diferenciação do vigor das sementes, avaliar a expressão genética diferencial de isoenzimas que realizam a hidrólise de reservas da semente, e aprofundar o entendimento da dinâmica de produção e consumo dos oligossacarídeos da família rafinose.

REFERÊNCIAS

- ABRASEM. **Anuário 2019/20**. Brasília: ABRASEM, 2022. Disponível em: https://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2022/01/ANUARIO_2019_2020.pdf. Acesso em: 20 nov. 2022.
- ABREU, V. M.; PINHO, E. V. R. V.; PINHO, R. G. V.; NAVES, G. M. F.; NETA, I. C. S.; GUIMARÃES, R. M.; CARVALHO, M. R. Physiological performance and expression of isozymes in maize seeds subjected to water stress. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 40–47, 2014.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p.121-126, 1984.
- ANDRADE, G. C. **Alterações bioquímicas em sementes de milho durante o envelhecimento acelerado explicam as diferenças do potencial fisiológico**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2019.
- ANDRADE, G. C.; COELHO, C. M. M.; PADILHA, M. S. Seed reserves reduction rate and reserves mobilization to the seedling explain the vigour of maize seeds. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 4, p. 488-497, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v41n4227354>
- ANDRADE, G. C.; COELHO, C. M. M.; UARROTA, V. G. Modelling the vigour of maize seeds submitted to artificial accelerated ageing based on ATR-FTIR data and chemometric tools (PCA, HCA and PLS-DA). **Heliyon**, v. 6, n. 2, p. 01-15, 2020.
- AZOOZ, M. M. Salt Stress Mitigation by Seed Priming with Salicylic Acid in Two Faba Bean Genotypes Differing in Salt Tolerance. **International journal of agriculture & biology**, v. 11, n. 4, p. 343-350, 2009.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205–207, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- BHAGYAWANT, S. S.; NARVEKAR, D. T.; GUPTA, N.; BHADKARIA, A.; KOUL, K. K.; SRIVASTAVA, N. Variations in the antioxidant and free radical scavenging under induced heavy metal stress expressed as proline content in chickpea. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 3, p. 683–696, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12298-019-00667-3>
- BHANDARI, G.; GHIMIRE, T. B.; SANGITA, K.; SHRESTHA, J.; ACHARYA, R. Effects of storage structures and moisture contents on seed quality attributes of quality protein maize. **Journal of Maize Research and Development**, v. 3, n. 1, p. 77–85, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.3126/jmrd.v3i1.18924>
- BLOCHL, A.; PETERBAUER, P.; RICHTER, A. Inhibition of raffinose oligosaccharide breakdown delays germination of pea seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 1093–1096, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.10.010>
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395p.

- BEWLEY, J. D., BRADFORD K. J., HILHORST, H. W. M., NONOGAKI H. **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013.
- BRADFORD, MARION M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Buitink, J.; Leprince, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, v. 48, n. 3, p. 215-228, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.02.011>
- CAFFREY, M.; FONSECA, V.; LEOPOLD, A. C. Lipid-sugar interactions: Relevance do anhydrous biology. **Plant Physiology**, v. 86, n. 3, p.754-758, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1104%2Fpp.86.3.754>
- CLEGG, K. M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.7, p.40-44, 1956. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740070108>
- CONAB. **Boletim da safra brasileira de grãos**. Brasília: CONAB, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 10 jan. 2024
- CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. A.; SILVA, A. F.; SILVA, D. D.; MACHADO, J. R. de A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V.; MENDES, S. M. **Milho: caracterização e desafios tecnológicos**. Brasília: Embrapa, 2019.
- COSTA SILVA NETA, I.; PINHO, E. V. R. V.; ABREU, V. M.; VILELA, D. R.; SANTOS, M. C.; SANTOS, H. O.; FERREIRA, R. A. D. C.; PINHO, R. G. V.; VANCONCELLOS, R. C. C. Gene expression and genetic control to cold tolerance during maize seed germination. **BMC Plant Biology**, v. 20, n. 188, p. 1-14, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02387-3>
- CORBINEAU, F. Markers of seed quality: from presente to future. **Seed Science Research**, v. 22, p. S61–S68, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258511000419>
- DELOUCHE, J. C. Seed deterioration. **Seed World**, v. 92, n. 4, p. 14-15, 1963.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science & Technology**, vol. 1, p. 427-452, 1973.
- DELOUCHE, J. C.; CALDWELL, W. P. Seed vigor and vigor tests. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, v. 50, n. 1, p. 124-129, 1960.
- DUBAL, I. T. P.; CARVALHO, I. R.; PIMENTEL, J. R.; TROYJACK, C.; SZARESKEI, V. J.; JAQUES, L. B. A.; ESCALERA, R. A. V.; SANTOS, L. A.; LAUTENCHLEGER, F.; LORO, M. V.; VILLELA, F. A.; AUMONDE, T. Z.; PEDÓ, T. Effect of production environments on storage and physiological quality of maize seed. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 8, p. 1-15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33158/ASB.r138.v8.2022>
- EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 145, p. 34–42, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.028>
- EHRHARDT-BROCARD, N. C. M.; COELHO, C. M. M. Padrão de hidratação e qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 1791–1800, 2016. DOI: [10.5433/1679-0359.2016v37n4p1791](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n4p1791).
- EYSTER, H. C. Effect of Temperature on Catalase Activity. **The Ohio Journal of Science**, v. 50, n. 6, p. 273-277, 1950.

- FAGERIA, C. K.; BALIGAR, V. C.; CLARCK, R. B. **Physiology of crop production**. New York: Haworth Press, 2006.
- FALAVIGNA, V. S.; PORTO, D. D.; MIOTTO, Y. E.; SANTOS, H. P.; OLIVEIRA, P. R. D.; MARGIS-PINHEIRO, M.; PASQUALI, G.; REVERS, L. F. Evolutionary diversification of galactinol synthases in Rosaceae: adaptive roles of galactinol and raffinose during apple bud dormancy. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 5, p. 1247-1259, 2018.
- FAOSTAT. **Crops and livestock products**. [S. l.]: FAO, 2022. Disponível em: www.fao.org/faostat/en/#data. Acesso em: 02 jun. 2022.
- FINCH-SAVAGE, William E.; BASSEL, George W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2015.
- FRIES, D. D.; ALVES, J. D.; FILHO, N. D.; MAGALHÃES, P. C.; GOULART, P. F. P.; MAGALHÃES, M. M. Crescimento de plântulas do milho 'saracura' e atividade de α -amilase e invertases associados ao aumento da tolerância ao alagamento exercido pelo cálcio exógeno. **Bragantia**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- GARCÍA-LARA, S.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Corn history and culture. In: SERNA-SALDIVAR, S. O. **Corn**. 3 ed. [S.l.]: Elsevier. 2019, p. 1-18.
- GAROMA, B. CHIBSA, T.; KENO, T.; DENBI, Y. Effect of Storage Period on Seed Germination of Different Maize Parental Lines. **Journal of Natural Sciences Research**, v. 7, n. 4, 2017.
- GILL, S. N.; DELOUCHE, J. C. Deterioration of seed corn during storage. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, v. 63, p. 33-50, 1973.
- GOMES-JUNIOR, F. G. Análise computadorizada de imagens de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. V.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2 ed. Londrina: ABRATES. 2020, p. 141-184.
- HEBERLE, E.; ARAUJO, E. F.; FILHO, A. F. de L.; CECON, P. R.; ARAUJO, R. F.; AMARO, H. T. R. Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de milho durante o armazenamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 657-665, 2019.
- HODGES, D.; DELONG, J.; FORNEY, C.; PRANGE, R. K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v. 207, p. 604-611, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004250050524>
- IM, H.; HENSON, C. A. The Impact of Barley α -Glucosidases on Mashing and the Production of Fermentable Sugars. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 79, n. 4, p. 378-383, 2021. DOI: doi.org/10.1080/03610470.2021.1880222
- KALAIVANI, V.; NIKARIKA, R.; SHOMA, N.; ARUNRAJ, R. Delayed hydrolysis of Raffinose Family Oligosaccharides (RFO) affects critical germination of chickpeas. **3 Biotech**, v. 11, n. 6, p. 298, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02764-1>
- KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. V.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2. ed. Londrina: ABRATES. 2020a.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; GOMES-JUNIOR, F. G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado em desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.;

- VIEIRA, R. V.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2 ed. Londrina: ABRATES. 2020b, p. 79–140.
- LI, T; ZHANG, Y.; WANG, D.; LIU, Y.; DIRK, L. M. A.; GOODMAN, J.; DOWNIE, A. B.; WANG, J.; WANG, G.; ZHAO, T. Regulation of Seed Vigor by Manipulation of Raffinose Family Oligosaccharides in Maize and *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant**, v. 10, n. 12, p. 1540–1555, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.10.014>
- LIU, M.; LI, M.; LIU, K.; SUI, N. Effects of Drought Stress on Seed Germination and Seedling Growth of Different Maize Varieties. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 5, p. 231-240, 2015.
- Mansouri-Far C.; Goodarzian-Ghahfarokhi M.; Saeidi M.; Abdoli M. Antioxidant enzyme activity and germination characteristics of different maize hybrid seeds during ageing. **Environmental and Experimental Biology**, v. 13, p. 177–182, 2015.
- MARCOS FILHO, Júlio. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015.
- MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. V.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2 ed. Londrina: ABRATES. 2020a, p. 185–246.
- MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: Importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. V.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2 ed. Londrina: ABRATES. 2020b, p. 17-78.
- MCCREADY, R. M. GUGGOLS, J.; SILVIERA, OVENS, S. H. Determination of starch and amylose in vegetables. **Analytical chemistry**, v. 22, n. 9, p. 1156-1158, 1950.
- MONERRI, C.; GUARDIOLA, J. L. Las amilasas del guisante. Su estimacion en extractors crudos. **Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 2, p. 219-233, 1986.
- NAGUIB, D. M.; ABDALLA, H. Metabolic Status during Germination of Nano Silica Primed Zea mays Seeds under Salinity Stress. **Journal Of Crop Science And Biotechnology**, v. 22, n. 5, p. 415-423, 2019.
- NAVARRO, M.; FEBLES, G.; HERRERA, R. S. Vigor: essential element for seed quality El vigor, elemento indispensable de la calidad de las semillas. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 49, n. 4, p. 447-458, 2015.
- NERLING, D.; COELHO, C. M. M.; BRUMMER, A. Biochemical profiling and its role in physiological quality of maize seeds. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 7-15, 2018.
- NERLING, D.; COELHO, C. M. M.; BRÜMMER, A. The hydrolysis dynamic of storage reserves in maize seed germination helps to explain differences in inbred lines and hybrid seed vigor. **Journal of Seed Science**, v. 44, p. 1-11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v44258701>
- PADILHA, M. S.; COELHO, C. M. M.; ANDRADE, G. C. Seed reserve mobilization evaluation for selection of high-vigor common bean cultivars. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 927-935, 2020.
- PADILHA, M. S.; COELHO, C. M. M.; EHRHARDT-BROCARD, N. C. M. Vigor and alpha-amylase activity in common bean seeds under salt stress conditions. **Semina. Ciências agrárias**, v. 42, p. 3633-3650, 2021.

PADILHA, M. S.; COELHO, C. M. M.; SOMMER, A. S. Seed vigor, genotype and proline in common bean seedling formation under drought and saline stress. **Revista Ciência Agronômica**, v. 53, p. 1-12, 2022.

PEHLIVAN, F. E. Free Radicals and Antioxidant System in Seed Biology. In: JIMENEZ-LOPEZ, J. C. **Advances in Seed Biology**. [S. l.]: InTech, 2017.

PEREIRA FILHO, I. A.; BORGHI, E. **Cultivares de milho para safra 2022/2023**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 2022.

PRAZERES, C. S.; COELHO, C. M. M. Divergência genética e heterose relacionada à qualidade fisiológica em sementes de milho. **Bragantia**, v. 75, n. 4, p.411-417, 2016a.

PRAZERES, C. S.; COELHO, C. M. M. Heterose para qualidade fisiológica de sementes na obtenção de híbridos de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n.1, p. 124-133, 2016b.

PRAZERES, C. S.; COELHO, C. M. M.; SOUZA, C. A. Biochemical compounds and enzymatic systems related to tolerance to water deficit of maize seedlings. **Plant Physiology Reports**, vol. 26, n. 3, p. 402–411, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40502-021-00602-3>

RAO, A. S.; WAGLE, D. S. Beta-amylase Activity in Artificially Aged Soybean Seeds. **Biologia Plantarum**, v. 23, n. 1, p. 24-27, 1981.

REED, R. C.; BRADFORD, K. J.; KHANDAY, I. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. **Heredity**, v. 128, p. 450–459, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00497-2>

REIS, V. U. V.; PENIDO, A. C.; CARVALHO, E. R.; ROCHA, D. K.; REIS, L. V.; SEMOLINI, P. H. Z. Vigor of maize seeds and its effects on plant stand establishment, crop development and grain yield. **Journal of Seed Science**, v. 44, p. 1-12, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/2317-1545V44257527>

RHAMAN, M. S.; IMRAN, S.; RAUF, F.; KHATUN, M.; BASKIN, C. C.; MURATA, Y.; HASANUZZAMAN, M. Seed Priming with Phytohormones: An Effective Approach for the Mitigation of Abiotic Stress. **Plants**, v. 10, p. 37, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10010037>

SAKO, Y.; MCDONALD, M. B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A. K.; BENNET, M. A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed science and technology**, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SANGOI, L.; KOLLING, D. F.; DALL'IGNA, M. J.; DALL'IGNA, L.; VOSS, R.; LUCIELI, S. L. Tratamento de sementes com bioestimulante é incapaz de mitigar a emergência desuniforme do milho. **Brazilian Journal of Maize and Sorghum**, v. 15, n. 3, p. 428-438, 2016.

Sbrussi, G. C. A.; Zucareli, C. Germinação de sementes de milho com diferentes níveis de vigor em resposta à diferentes temperaturas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 215-226, 2014.

MAPA. **SIGEF - Controle da produção de sementes e mudas**. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://indicadores.agricultura.gov.br/sigefsementes/index.htm> Acesso em: 02 jun. 2022.

SMOLIKOVA, G. N.; MEDVEDEV, S. S. Seed carotenoids: Synthesis, diversity, and functions. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 62, p. 1–13, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1021443715010136>

SOMMER, A. S. **Vigor em sementes de milho híbrido e sua relação com a hidrólise, mobilização de reservas e desempenho de plântulas sob condições de estresse salino**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2022.

SUN, Z.; HENSON, C. A. A quantitative assessment of the importance of barley seed α -amylase, β -amylase, debranching enzyme, and α -glucosidase in starch degradation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 284, n. 2, p. 298-305, 1991.

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

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS-FILHO, J. Seed performance of different corn genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 207-215, 2013.

VIEIRA, R. D.; MARCOS-FILHO, J. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. V.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2 ed. Londrina: ABRATES. 2020, p. 333–388.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants Protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, vol. 151, p. 59-66, 2000.

WATTANAKULPAKIN, P.; PHOTCHANACHAI, S.; MIYAGAWA, S.; RATANAKHANOKCHAI, K. Loss of maize seed vigor as affected by biochemical changes during hydropriming. **Crop Science**, v. 52, n. 6, p. 2783–2793, 2012. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.02.0089>

WELLBURN, A. R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **J Plant Physiol**, v. 144, p. 307-313, 1994.

XU, Y.; MA, P.; NIU, Z.; LI, B.; LV, Y.; WEI, S.; HU, Y. Effects of artificial aging on physiological quality and cell ultrastructure of maize (*Zea mays* L.). **Cereal Research Communications**, v. 51, p. 615–626, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42976-022-00328-4>

YAMAGUCHI, J.; ITOH, S.; SAITOH, T.; IKEDA, A.; TASHIRO, T.; NAGATO, Y. Characterization of β -amylase and its deficiency in various rice cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 32–38, 1999.

ZHOU, L.; LU, L.; CHEN, C.; ZHOU, T.; WU, Q.; WEN, F.; CHEN, J.; PRITCHARD, H. W.; PENG, C.; PEI, J.; YAN, J. Comparative changes in sugars and lipids show evidence of a critical node for regeneration in safflower seeds during aging. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-17, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1020478>