

ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM SEMENTES DE MILHO SUBMETIDAS A DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA E MÉTODOS DE DEBULHA

JOÃO CARLOS CARDOSO GALVÃO¹, PATRÍCIA MARLUCI DA CONCEIÇÃO², EDUARDO
FONTES ARAÚJO¹, JULIANE KARSTEN¹ e FERNANDO LUIZ FINGER³

¹Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, jgalvao@ufv.br; efaraujo@ufv.br; julika4@yahoo.com.br; ffinger@ufv.br

²Universidade Federal de São Carlos, Araras, SP, Brasil, patricia@cca.ufscar.br

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.13, n.1, p. 14-23, 2014

RESUMO - As condições adversas do ambiente e os danos mecânicos aceleram a deterioração das sementes. Durante esse processo, ocorrem diminuição da qualidade fisiológica e alterações nas atividades enzimáticas das sementes. Neste trabalho, objetivou-se avaliar as alterações fisiológicas e alterações nas atividades das enzimas peroxidase, catalase, álcool desidrogenase e α -amilase em sementes colhidas em diferentes épocas (experimento 1) e sementes submetidas a diferentes métodos de debulha (experimento 2). Foram utilizadas sementes de milho da variedade UFV-M100 Nativo. No experimento 1, as sementes foram colhidas em quatro épocas: quando atingiram o teor de água de 25% e 10, 20 e 30 dias após a primeira colheita. No experimento 2, as sementes foram colhidas com teor de água de 25% e submetidas às debulhas: manual, em debulhador estacionário manual e em debulhador estacionário. O atraso da colheita das sementes reduz a qualidade fisiológica das sementes, com a redução da atividade da peroxidase e aumento da atividade da álcool desidrogenase. Nas sementes debulhadas em debulhador estacionário manual, foram verificadas menor atividade das enzimas peroxidase e álcool desidrogenase e menor qualidade fisiológica em relação aos demais tratamentos. As alterações enzimáticas nas sementes variam com o tipo de dano (mecânico, condições adversas do ambiente).

Palavras-chave: enzima; qualidade fisiológica; peroxidase; álcool desidrogenase.

PHYSIOLOGICAL AND ENZYMATIC ALTERATIONS IN MAIZE SEEDS SUBMITTED TO DIFFERENT HARVEST SEASONS AND TYPES OF THRESHING

ABSTRACT - Adverse environmental conditions and mechanical damages accelerate seed deterioration. During this process, reduction of the physiological quality and changes in the enzymatic activity of seeds occur. The objective of this work was to evaluate physiologic alterations and changes on the activity of the enzymes peroxidase, catalase, alcohol dehydrogenase and α -amylase, in seeds harvested at different seasons (experiment 1) and seeds submitted to different threshing methods (experiment 2). UFV-M100 Nativo maize seeds were used. In the experiment 1, seeds were harvested in four seasons: when they reached 25% water content, and 10, 20 and 30 days after the first harvest. In the experiment 2, seeds were harvested with 25% water content and submitted to the following threshings: manual, manual stationary thresher and stationary thresher. Delay on the seed harvest reduced the physiological quality of the seeds and peroxidase activity and increased activity of alcohol dehydrogenase. Seeds threshing in a manual stationary thresher presented lower physiological quality and lower activity of peroxidase and alcohol dehydrogenase compared to the other treatments. Enzymatic changes in the seeds varied with the type of damage (mechanical, adverse environmental conditions).

Key words: enzyme; physiological quality; peroxidase; alcohol dehydrogenase.

A deterioração das sementes é determinada por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, determinando a queda da qualidade e culminando com a morte das sementes (Marcos Filho, 2005). As manifestações de deterioração têm sido evidenciadas pela redução no crescimento ou no vigor das plântulas, maior suscetibilidade a ataques de microrganismos patogênicos, emergência desuniforme e redução da produtividade (Delouche & Baskin, 1973).

As mudanças nas atividades enzimáticas durante a deterioração também são bastante investigadas. Copeland & McDonald (2001) destacaram que, para detectar o início da deterioração das sementes, as avaliações mais sensíveis são aquelas relacionadas às atividades de enzimas associadas à biossíntese de tecidos novos, uma vez que, com o processo de deterioração das sementes, as enzimas tornam-se menos eficientes para exercer a atividade catalítica. Variações nos perfis eletroforéticos de enzimas relacionadas ao processo respiratório, à peroxidação de lipídios e à remoção de radicais livres também podem se constituir em ferramenta eficiente para monitorar as alterações bioquímicas resultantes da deterioração (Chauhan et al., 1985). Entre as enzimas envolvidas na remoção de radicais livres, estão a catalase e a peroxidase. A álcool desidrogenase está relacionada ao processo respiratório. A α -amilase é uma enzima importante na hidrólise do amido, sendo responsável por 90% da atividade amilolítica em sementes de milho (Kigel & Galili, 1995).

Segundo Rosa et al. (2005), em sementes de milho, a aquisição de tolerância à secagem sob alta temperatura é associada à atividade da enzima

catalase e pouco associada à atividade das enzimas superóxido dismutase e peroxidase. Veiga et al. (2010) afirmaram que enzimas envolvidas nos processos de respiração, como a piruvato quinase, e na deterioração das sementes, como as esterases, malato desidrogenase, álcool desidrogenase, catalase, peroxidase, dentre outras, têm um grande potencial como marcadores moleculares para monitorar e caracterizar a qualidade fisiológica de sementes. Além disso, constituem ferramentas de grande valor, pois, além de auxiliarem no diagnóstico do estado fisiológico de sementes, podem, em determinados casos, ajudar no entendimento sobre as causas da redução de vigor e viabilidade.

As condições adversas do ambiente e os danos durante as práticas de manejo podem acelerar o processo de deterioração das sementes (Delouche, 1963). Entre os fatores que podem diminuir a qualidade fisiológica das sementes, está o atraso da colheita, pois, durante o período entre a maturação e a colheita, as sementes ficam expostas à ação de fatores bióticos e abióticos, tendo o processo de deterioração acelerado. Fatores como insetos (gorgulhos e traças), pássaros, chuva e ventos contribuem para aumentar as perdas da qualidade das sementes pelo atraso na colheita (Santos, 1993).

A injúria mecânica é outro fator importante que diminui a qualidade fisiológica das sementes. As injúrias são consequência, na maioria das vezes, da mecanização das atividades agrícolas. É problema inevitável, pois as principais fontes de injúria se encontram em todas as etapas do processo produtivo: colheita, beneficiamento, armazenamento e transporte (Carvalho & Nakagawa, 2000). Segundo Andrade et al. (1998), os danos mecânicos em sementes durante a colheita, a debulha e

o beneficiamento são extremamente prejudiciais à qualidade das mesmas, pois o produto que sofreu injúria tem seu valor de mercado reduzido, até mesmo por seu aspecto visual. A mecanização é utilizada em todas as fases de produção de sementes, por isso os equipamentos devem ser regulados de maneira que se evitem maiores perdas no momento da colheita. Os danos mecânicos provocados pela rotação do cilindro trilhador e teor de água, no momento da colheita, influenciam a qualidade fisiológica das sementes.

Na colheita, as injúrias mecânicas ocorrem no momento da debulha, no momento em que forças consideráveis são aplicadas sobre a semente, a fim de separá-las da estrutura que as contém. Os danos mecânicos podem destruir estruturas essenciais das sementes, aumentar a suscetibilidade a microrganismos e a sensibilidade a fungicidas, além de reduzir a germinação, o vigor, o potencial de armazenamento e o desempenho em campo (Mantovani & Fontes, 1989).

Neste trabalho, objetivou-se avaliar as alterações fisiológicas e alterações nas atividades das enzimas peroxidase, catalase, álcool desidrogenase e a-amilase em sementes colhidas em diferentes épocas e sementes submetidas a diferentes métodos de debulha.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no laboratório de produção e tecnologia de sementes e na casa de vegetação, ambos pertencentes à Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Minas Gerais.

Para obtenção de sementes de milho variedade UFV-M100 Nativo com diferentes qualidades

fisiológicas, as sementes foram colhidas em diferentes épocas (experimento 1) ou submetidas a diferentes tipos de debulha (experimento 2).

Experimento 1. As sementes foram colhidas em quatro épocas: a primeira colheita ocorreu quando as sementes atingiram o teor de água de 25%; as demais foram realizadas 10, 20 e 30 dias após a primeira colheita, apresentando 21% de teor de água. As sementes foram debulhadas manualmente e secadas ao sol até apresentarem teor de água de 13%. Posteriormente, foram limpas, classificadas e acondicionadas em embalagem de papel multifoliado e armazenadas em câmara fria (20°C e 75% UR) por sete dias e, depois, foram realizadas as avaliações da qualidade fisiológica e do sistema enzimático.

Experimento 2. As sementes foram colhidas com teor de água de 25% e submetidas à debulha manual, debulhador estacionário manual (rotação de 250 rpm) e debulhador estacionário da marca “Nogueira”, modelo BC 80, com fonte de alimentação elétrica (rotação de 1500 rpm).

Após a debulha, as sementes foram secadas ao sol até atingirem teor de água de 13%. Em seguida, foram limpas, classificadas e acondicionadas em embalagem de papel multifoliado e armazenadas em câmara fria (20 °C e 75% UR) por sete dias e, depois, foram realizadas as avaliações da qualidade fisiológica e do sistema enzimático.

Para avaliação da qualidade fisiológica, as sementes foram submetidas aos seguintes testes:

Teste de germinação: realizado conforme critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Foram utilizadas três subamostras de 50 sementes por repetição.

Primeira contagem de germinação: realizado concomitantemente com o teste de germinação,

computando-se a porcentagem de plântulas normais encontradas no quarto dia após a instalação do teste.

Teste de frio sem solo: as sementes foram distribuídas em papel germitest umedecido com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do papel. Após a semeadura, os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos e estes foram mantidos em incubadora BOD regulada a 10 °C durante sete dias. Após esse período, os rolos no interior dos sacos plásticos foram transferidos para um germinador regulado a 25 °C, onde permaneceram por mais quatro dias. A avaliação da germinação foi realizada de acordo com as recomendações contidas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Foram utilizadas três subamostras de 50 sementes por repetição.

Teste de envelhecimento acelerado: as sementes foram distribuídas sobre tela de arame no interior de caixas gerbox com 40 ml de água destilada. As caixas foram acondicionadas em BOD a 45 °C por 72 h. Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, por quatro dias, conforme descrito anteriormente. Foram utilizadas três subamostras de 50 sementes por repetição.

Emergência em leito de areia: foi conduzido em bandejas plásticas com areia, onde 50 sementes foram distribuídas em sulcos com 2 cm de profundidade e distantes 2 cm entre si. O substrato foi umedecido sempre que necessário e a avaliação final das plântulas foi realizada até a estabilização da emergência, que ocorreu 15 dias após a semeadura. Foram utilizadas três subamostras de 50 sementes por repetição. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Índice de velocidade de emergência: utilizou-se o mesmo teste de emergência em areia,

sendo que para sua determinação foram realizadas contagens diárias do número de plântulas a partir da emergência da primeira plântula. Foram consideradas emergidas as plântulas com plúmulas visíveis e com 2 cm de parte aérea, sendo o índice calculado conforme Maguire (1962).

Para as avaliações enzimáticas, as sementes foram previamente colocadas para iniciar o processo de germinação. Para tal, foi utilizado como substrato o rolo de papel germitest umedecido com volume de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco. Os rolos foram mantidos em germinadores à temperatura de 25 °C, por 48 h, para as análises das enzimas peroxidase, catalase e álcool desidrogenase e, por 70 h, para a análise da enzima α -amilase. Após esse período, o sistema radical e a parte aérea das plântulas foram retirados com o auxílio de um estilete e as sementes foram colocadas em pacotes de alumínio e congeladas em nitrogênio líquido. Em seguida, foram armazenadas em freezer horizontal (-20 °C) para posterior análise das enzimas peroxidase (Neves, 2003), catalase (Hodges, 1997), α -amilase (Worthington, 1947) e álcool desidrogenase (Mitchell & Jelenkovic, 1995).

O experimento 1 foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. Os modelos de regressão foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão com o teste t, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação (R²) e no fenômeno biológico a ser descrito. Para fins de análise estatística, os dados obtidos em porcentagem foram previamente transformados em arco seno $\sqrt{\%/100}$ para atender à distribuição

normal dos dados. Nos gráficos, são apresentados os dados transformados.

O experimento 2 foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, quando o teste F foi significativo. Para fins de análise estatística, os dados obtidos na emergência em leito de areia foram previamente transformados em arco seno $\sqrt{\%/100}$ para atender à distribuição normal dos dados. Na tabela 1, são apresentados os dados transformados.

Resultados e Discussão

Nas sementes colhidas em diferentes épocas, o atraso da colheita diminuiu o número de plântulas normais no teste de germinação e emergência em leito de areia e reduziu a velocidade de emergência (Figura 1). Segundo Arhens & Peske (1994), a deterioração das sementes tem início logo após as sementes atingirem a maturidade fisiológica, ou seja, antes da colheita. Logo, a antecipação da colheita pode reduzir a diminuição da qualidade das sementes, principalmente quando, no final da fase de maturação, as condições ambientais são adversas.

As épocas de colheita não influenciaram significativamente a atividade das enzimas catalase e α -amilase. O atraso da colheita reduziu a atividade da enzima peroxidase (Figura 2), resultado que evidencia a ocorrência do aumento da deterioração das sementes com o atraso da colheita das sementes. A peroxidase desempenha um papel importante no metabolismo das sementes, por utilizar peróxidos como aceptor de hidrogênio, podendo contribuir para o aumento dos mecanismos de defesa e prevenção de perda na qualidade (Ushimaru et al., 2001). De acordo

com Bewley & Black (1994), a redução da atividade dessa enzima proporciona maior exposição dos sistemas de membranas aos efeitos do O₂, resultando na menor qualidade fisiológica das sementes.

O atraso da colheita das sementes aumentou a atividade da enzima álcool desidrogenase (Figura 2). A álcool-desidrogenase catalisa a conversão de acetaldeído em etanol, durante o metabolismo fermentativo (respiração anaeróbica), reduzindo significativamente o acúmulo daquele composto tóxico. O aumento da atividade da álcool desidrogenase pode estar relacionado ao aumento da respiração anaeróbica e, assim, com o aumento da deterioração das sementes com o atraso da colheita das sementes. As condições adversas no campo de produção após as sementes atingirem a maturidade fisiológica e o alto teor de água das sementes podem aumentar a taxa respiratória das mesmas, acelerando o processo de deterioração. As condições do ambiente (umidade relativa do ar e temperatura), assim como o teor de água das sementes, são fatores que influenciam a longevidade das mesmas, por manterem o embrião em maior ou menor atividade metabólica (Macedo et al., 1999). Segundo Santos et al. (2005), há aumento da respiração nas sementes que se encontram em processo deteriorativo, uma vez que as enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de reduzida qualidade.

As sementes submetidas ao debulhador estacionário manual tiveram menor qualidade fisiológica comparativamente aos demais tratamentos, mostrando menor número de plântulas normais no teste de germinação, primeira contagem da germinação, frio sem solo, envelhecimento acelerado e emergência em leito de areia e menor velocidade de emergência (Tabela 1).

O debulhador estacionário manual foi pouco eficiente na debulha das sementes, pois

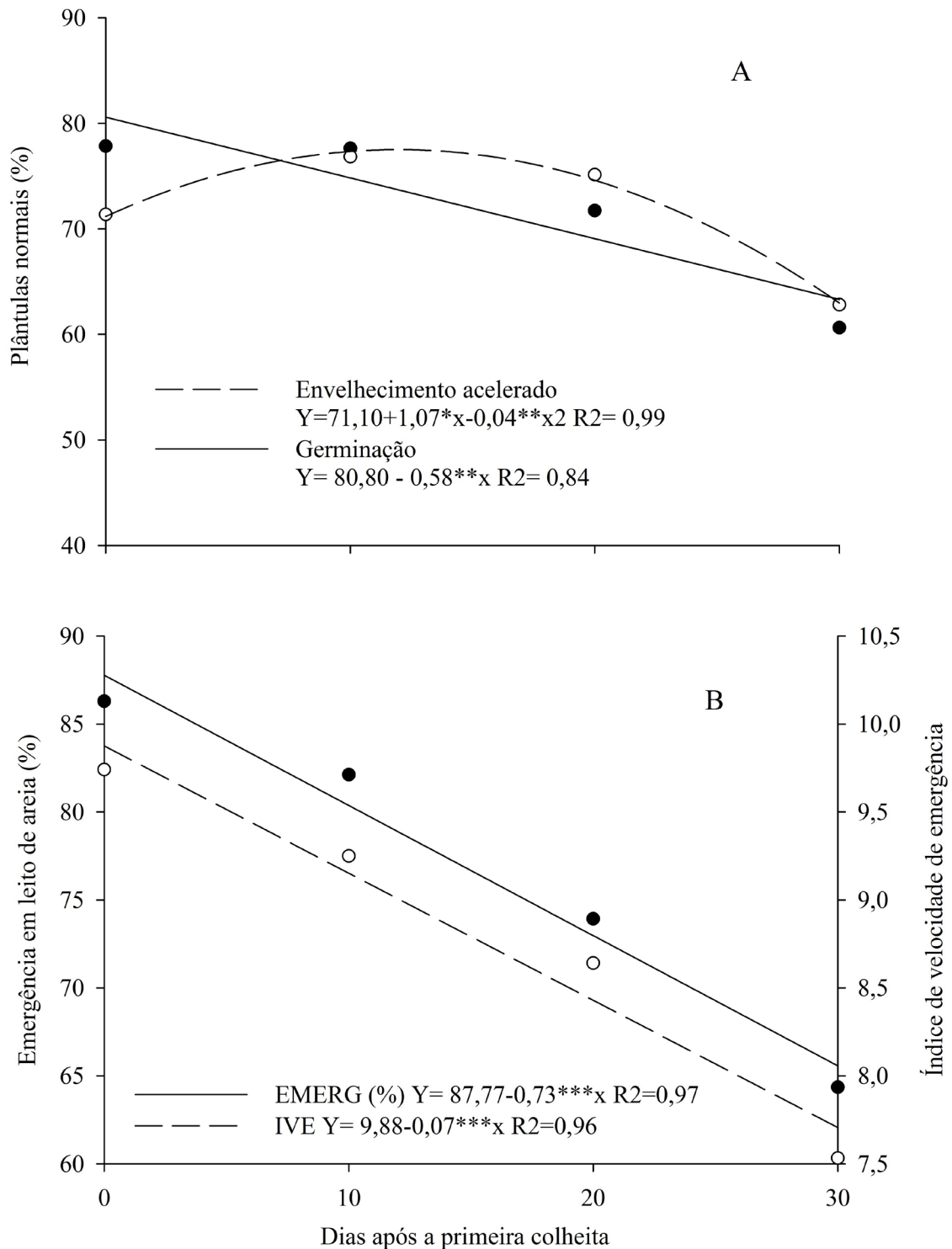


FIGURA 1. Teste de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em leito de areia e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de milho colhidas com teor de água de 25% e 10, 20 e 30 dias após a primeira colheita. (*) Significativo a 5%; (**) Significativo a 1%, (***) Significativo a 0,1%.

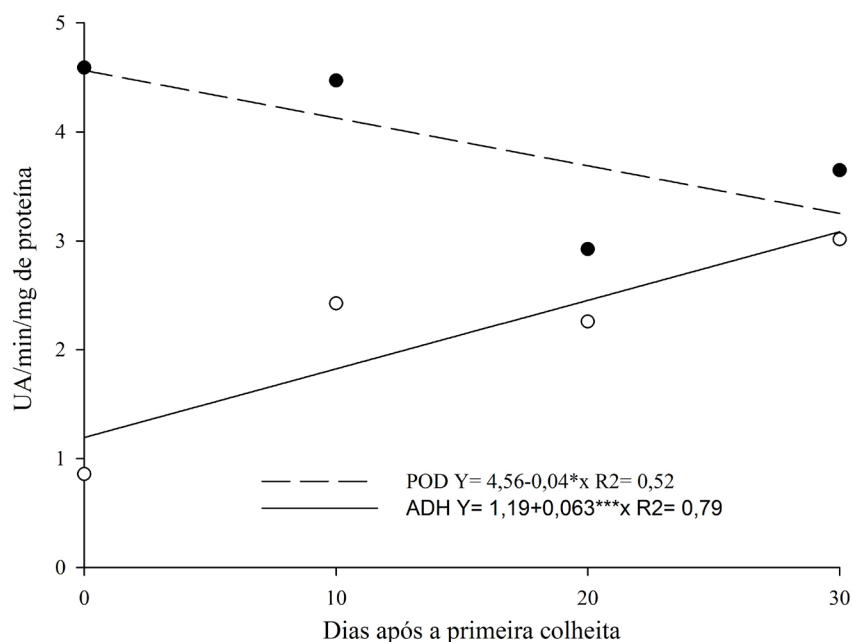


FIGURA 2. Atividade da peroxidase (POD) e álcool desidrogenase (ADH) em sementes de milho colhidas com teor de água de 25% e 10, 20 e 30 dias após a primeira colheita. (*) Significativo a 5%; (**) Significativo a 1%, (***) Significativo a 0,1%.

muitas espigas tiveram que passar duas vezes pelo debulhador, o que possivelmente aumentou os danos mecânicos. O teor de água de 25% dificultou a debulha no debulhador estacionário manual (rotação de 250 rpm) comparado ao debulhador estacionário com fonte de alimentação elétrica (rotação de 1500 rpm), pois, quanto mais úmidas as sementes,

maior a dificuldade de debulhá-las, exigindo maior rotação do cilindro batedor.

As sementes debulhadas no debulhador estacionário manual tiveram menor atividade das enzimas peroxidase e álcool desidrogenase (Tabela 2). Segundo Carvalho & Nakagawa (2000), quanto maior for a extensão das injúrias das sementes (ou

TABELA 1. Teste de germinação (GERM), primeira contagem da germinação (PC), teste de frio sem solo (TF), envelhecimento acelerado (EA), emergência em leito de areia (EMERG) e índice de velocidade de emergência (IVE) em sementes de milho submetidas a debulha manual (1), a debulhador estacionário manual (2) e a debulhador estacionário (3).¹

Tratamentos	GERM (%)	PC (%)	TF (%)	EA (%)	EMERG (%)	IVE
1	97 A	94 A	93 A	72 A	77 A	9,15 A
2	55 B	45 B	42 B	33 B	47 B	5,04 B
3	88 A	83 A	79 A	61 A	69 A	8,43 A
C.V. (%)	10,67	15,3	13,98	15,5	7,37	9,53

¹Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey (p = 0,05).

TABELA 2. Atividade das enzimas peroxidase (POD), α -amilase, catalase (CAT) e álcool desidrogenase (ADH) em sementes de milho submetidas a debulha manual (1), a debulhador estacionário manual (2) e a debulhador estacionário (3).¹

Tratamentos	POD	α -amilase	CAT	ADH
1	4,27 A	0,055 A	1,16 AB	2,66 A
2	0,65 C	0,058 A	0,81 B	1,07 B
3	2,93 B	0,066 A	1,22 A	2,77 A
C.V. (%)	18,63	22,77	18,19	26,30

¹Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p = 0,05$).

seja, o grau de deterioração), maiores serão os gastos de energia e o tempo para repará-las. Só depois de concluída a restauração é que pode ter prosseguimento o processo de germinação. Na primeira fase da germinação, é importante a indução da síntese e atividade de enzimas e hormônios (Marcos Filho, 2005). No entanto, com o aumento das injúrias nas sementes, esses processos podem ser prejudicados, reduzindo a atividade de enzimas importantes no processo respiratório e remoção de radicais livres, reduzindo a qualidade fisiológica das sementes.

Walters (1998) e McDonald (1999) afirmaram que, entre os eventos causadores da deterioração, estão as alterações na atividade enzimática, que indicam redução na atividade da α -amilase, catalase, peroxidase, álcool desidrogenase, entre outras enzimas. No entanto, Marcos Filho (2005) afirma que o aumento da atividade dessas enzimas indica a evolução da deterioração devido à necessidade de atuação mais intensa das enzimas participantes do complexo antioxidante.

A debulha realizada em debulhador estacionário manual diminuiu a atividade da álcool desidrogenase. O atraso da colheita aumentou a atividade da álcool desidrogenase. Possivelmente, as alterações enzimáticas nas sementes variam com o tipo de dano (mecânico, condições adversas do ambiente).

Conclusões

O atraso de colheita das sementes de milho diminuiu a qualidade fisiológica das sementes, diminuiu a atividade da enzima peroxidase e aumentou a atividade da enzima álcool desidrogenase.

O debulhador estacionário manual causa maiores danos à qualidade fisiológica das sementes e diminuiu a atividade das enzimas peroxidase e álcool desidrogenase.

As alterações enzimáticas (peroxidase e álcool desidrogenase) podem ser utilizadas para monitorar e caracterizar a qualidade fisiológica de sementes de milho. Podem ainda, em determinados casos, ajudar no entendimento sobre as causas da redução de vigor e viabilidade.

References

- AHRENS, D. C.; PESKE, S. T. Flutuações de umidade e qualidade de semente de soja após a maturidade fisiológica. II. Avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 16, p. 111-115, 1994.
- ANDRADE, E. T.; CORRÊA, P. C.; ALVARENGA, E. M.; MARTINS, J. H. Efeitos de danos

- mecânicos controlados sobre a qualidade fisiológica de sementes de feijão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 23, p. 41-51, 1998.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, p. 445, 1994.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 424 p.
- CHAUHAN, K. P. S.; GOPINATHAN, M. C.; BABU, C. R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, p. 629-641, 1985.
- COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 2001. 467 p.
- DELOUCHE, J. C. Seed deterioration. **Seed World**, Chicago, v. 92, p. 14-15, 1963.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 427-452, 1973.
- HODGES, D. M.; ANDREWS, C. J.; JOHNSON, D. A.; HAMILTON, R. I. Antioxidant enzyme responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 48, p. 1105-1113, 1997.
- KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.
- MACEDO, E. C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 21, p. 67-65, 1999.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.
- MANTOVANI, B. H. M.; FONTES, R. A. **Secagem e armazenamento de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1989. 35 p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.
- McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science Research**, Oxon, v. 27, p. 177-237, 1999.
- MITCHELL, W. C.; JELENKOVIC, G. Characterizing NAD- and NADP-dependent alcohol dehydrogenase enzymes of strawberries. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 120, p. 798-801, 1995.
- NEVES, L. L. M. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]**. 2003. 72 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

- ROSA, S. D. V. F.; PINHO, E. V. R. V.; VIEIRA, E. S. N.; VEIGA, R. D.; VEIGA, A. D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas lea associadas à tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 27, p. 91-101, 2005.
- SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 27, p. 104-114, 2005.
- SANTOS, J. P. Recomendações para o controle de pragas de grãos e de sementes armazenadas. In: BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1993. p. 197-236.
- USHIMARU, T.; KANEMATSU, S.; KATAYAMA, M.; TSUJI, H. Antioxidative enzymes in seedling of *Nelumbo nucifera* germinated under water. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 112, p. 39-46, 2001.
- VEIGA, A. D.; PINHO, E. V. R. V.; VEIGA, A. D.; PEREIRA, P. H. A. R.; OLIVEIRA, K. C.; PINHO, R. G. V. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 953-960, 2010.
- WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, Oxon, v. 8, p. 223-244, 1998.
- WORTHINGTON, V. **Worthington enzyme manual**. New Jersey: Worthington Biochemical Corp, 1947. 401 p.