

**TOLERÂNCIA A ALTA TEMPERATURA DE
SECAGEM DE SEMENTES DE MILHO**

SOLANGE CARVALHO BARRIOS ROVERI JOSÉ

2003

SOLANGE CARVALHO BARRIOS ROVERI JOSÉ

**TOLERÂNCIA A ALTA TEMPERATURA DE
SECAGEM DE SEMENTES DE MILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Roveri José, Solange Carvalho Barrios

Tolerância a alta temperatura de secagem de sementes de milho / Solange
Carvalho Barrios Roveri José. -- Lavras : UFLA, 2003.

149 p. : il.

Orientadora: Édila Vilela de Resende Von Pinho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Controle genético. 2. Secagem. 3. Milho. 4. Qualidade Fisiológica. 5.
Semente. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.156

SOLANGE CARVALHO BARRIOS ROVERI JOSÉ

**TOLERÂNCIA A ALTA TEMPERATURA DE
SECAGEM DE SEMENTES DE MILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 26 de agosto de 2003

Prof. Dr. Cláudio Cavariani	UNESP
Prof. Dr. Magno Antônio Patto Ramalho	UFLA
Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães	UFLA
Prof. Dr. Rubens Sader	UNESP

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Daniel e Maria Helena, e irmãos, Sanzio e Soraya, por estarem sempre caminhando comigo no sentido do meu crescimento.

OFEREÇO

Ao meu marido Marcos pelo amor, apoio e por ensinar-me a controlar os pensamentos em direção da harmonia e felicidade.

A minha filha Lara, que sempre foi meu estímulo, com esse seu jeitinho alegre, doce e ao mesmo tempo brava, e muito participativa.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo privilégio de viver e contemplar toda a beleza da Criação.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura pela oportunidade de realização do curso.

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

À Coordenadoria de Pós-graduação do Departamento de Agricultura, na pessoa do Professor Samuel Pereira de Carvalho, pelo apoio e colaboração sempre manifestados.

À Professora Édila Vilela de Resende Von Pinho, um exemplo de amor à profissão, sempre presente como amiga e como orientadora. Obrigada por contribuir tanto para a minha formação profissional.

Ao professor Renzo Garcia Von Pinho pelos valiosos ensinamentos transmitidos e pela co-orientação neste trabalho.

Ao professor Magno Antônio Patto Ramalho, sempre disposto a contribuir com suas sugestões e esclarecimentos.

Aos Professores Dr. Rubens Sader e Dr. Cláudio Cavariani pela disponibilidade em participar da banca examinadora da defesa de tese e pelas valiosas sugestões.

A todos os profissionais da UFLA, em especial aos professores e pesquisadores Renato Mendes Guimarães, João Almir de Oliveira, Maria Laene Moreira de Carvalho, Maria das Graças G. Carvalho Vieira, Antônio Rodrigues Vieira e Sttela D. V. Franco da Rosa, que desde o início do meu curso, sempre estiveram dispostos a compartilhar seus conhecimentos com muita dedicação.

Ao professor Dr. Eduardo Bearzoti e ao pesquisador João Luis da Silva Filho – EMBRAPA/CNPA pela orientação e análise estatística.

A todos os funcionários e estudantes de graduação e pós-graduação do Setor de Sementes, meus grandes amigos. Obrigada pelos momentos compartilhados, pela solidariedade e atenção sempre manifestadas. Em especial ao César, por me auxiliar diretamente na condução do experimento, com muita responsabilidade e dedicação.

À minha funcionária Vera e à ex-babá Luzia pelo apoio e paciência.

A todos, enfim, o meu reconhecimento.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução geral.....	1
2 Referencial teórico.....	3
2.1 Desenvolvimento da semente de milho e tolerância à dessecação.....	3
2.1.1 Formação da semente.....	3
2.1.2 Tolerância à dessecação.....	5
2.2 Ponto de colheita e sensibilidade das sementes à injúria por secagem.....	13
2.3 Controle genético para tolerância à secagem.....	24
3 Referências bibliográficas.....	34
CAPÍTULO 2: Tolerância de sementes de linhagens de milho a alta temperatura de secagem.....	46
1 Resumo.....	46
2 Abstract.....	47
3 Introdução.....	48
4 Material e métodos.....	49
4.1 Avaliações fisiológicas.....	52
4.1.1 Teste de germinação.....	52
4.1.2 Primeira contagem de germinação.....	52

4.1.3 Teste de frio sem solo.....	52
4.1.4 Teste de condutividade elétrica.....	53
4.1.5 Envelhecimento acelerado.....	53
4.2 Procedimento estatístico.....	54
5 Resultados e discussão.....	54
6 Conclusão.....	62
7 Referências bibliográficas.....	62
CAPÍTULO 3: Controle genético da tolerância a alta temperatura de secagem de sementes de milho.....	66
1 Resumo.....	66
2 Abstract.....	67
3 Introdução.....	68
4 Material e métodos.....	69
4.1 Avaliações fisiológicas.....	71
4.1.1 Teste de germinação.....	71
4.1.2 Primeira contagem de germinação.....	71
4.1.3 Teste frio sem solo.....	72
4.1.4 Condutividade elétrica.....	72
4.1.5 Envelhecimento acelerado.....	72
4.2 Procedimento estatístico.....	73
4.2.1 Estimativas das capacidades geral e específica de combinação e do efeito recíproco.....	73
5 Resultados e discussão.....	74
6 Conclusões.....	101
7 Referências bibliográficas.....	101

CAPÍTULO 4: Tolerância de sementes de milho a alta temperatura de secagem: aspectos bioquímicos e anatômicos.....	106
1 Resumo.....	106
2 Abstract.....	107
3 Introdução.....	108
4 Material e métodos.....	109
4.1 Teste de germinação.....	111
4.2 Avaliações bioquímicas.....	111
4.2.1 Análise eletroforética da enzima α -amilase.....	112
4.2.2 Proteínas resistentes ao calor.....	112
4.3 Análise física do pericarpo das sementes.....	113
5 Resultados e discussão.....	114
6 Conclusões.....	134
7 Referências bibliográficas.....	135
Anexos.....	139

RESUMO GERAL

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Tolerância a alta temperatura de secagem de sementes de milho.** 2003. 149 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A intensidade dos danos de secagem varia com as condições de secagem, com a qualidade e o conteúdo de água iniciais das sementes, aliada aos aspectos genéticos. Sementes tolerantes a alta temperatura de secagem devem apresentar mecanismos que conferem proteção contra os danos provocados pela perda de água. A seleção de materiais tolerantes a alta temperatura de secagem proporciona uma maior eficiência nas etapas do processo produtivo de sementes. Nesse contexto, foram conduzidos três trabalhos de pesquisa na Universidade Federal de Lavras (UFLA) e na Universidade de Brasília (UnB). Em um dos trabalhos foram investigadas diferenças na qualidade fisiológica de sementes de linhagens de milho colhidas com 35% de teor de água e submetidas a temperatura de secagem de 45°C. Ficou evidenciada a existência da variabilidade genética para a tolerância a alta temperatura de secagem. No segundo trabalho, foi estudado o controle genético para a tolerância a alta temperatura de secagem. Para isso, foram utilizadas doze linhagens, previamente selecionadas, sendo 6 tolerantes e 6 intolerantes a alta temperatura de secagem, para compor um dialelo parcial 6 x 6 mais as linhagens parentais. Os efeitos da capacidade geral e específica de combinação, bem como os efeitos recíprocos, foram significativos para a tolerância a alta temperatura de secagem. Foi verificada a predominância do efeito recíproco, indicando que a tolerância a alta temperatura de secagem pode ser explicada pelo efeito materno. No terceiro trabalho, mudanças bioquímicas e anatômicas envolvidas na prevenção de injúria por secagem foram investigadas, incluindo a atividade da enzima α -amilase, os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor e a análise física do pericarpo das sementes. Foram utilizadas sementes de linhagens tolerantes e intolerantes a alta temperatura de secagem e sementes secadas à sombra, bem como sementes dos híbridos com efeito recíproco significativo. A enzima α -amilase foi extraída de sementes germinadas de cada material em tampão Tris-HCl 0,2 M e as proteínas resistentes ao calor, em tampão Tris-HCl 0,05 M, utilizando-se a modalidade eletroforética SDS-PAGE. Maior intensidade de banda para a enzima α -amilase foi verificada para as sementes das linhagens tolerantes a alta temperatura de secagem. Sementes híbridas e dos

* Comitê Orientador: Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA

respectivos híbridos recíprocos que apresentaram diferenças na qualidade fisiológica das sementes, avaliada pelo teste de germinação, também apresentaram diferenças na atividade da enzima α -amilase. Para as proteínas resistentes ao calor, os perfis eletroforéticos foram semelhantes entre as sementes híbridas e os recíprocos. Diferenças na tolerância das sementes a alta temperatura de secagem foi relacionada às características físicas do pericarpo. Uma estrutura menos densa do pericarpo, formada por células menos compactadas, refletiu positivamente sobre a qualidade fisiológica das sementes.

GENERAL ABSTRACT

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Tolerance to high drying temperature of the corn seeds.** 2003. 149 p. Thesis (Doctorate in Plant Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The intensity of damages caused by drying varies according to drying conditions, quality and initial water content in the seed, and also the genetic aspects. Seeds tolerant to high drying temperature must present mechanisms that provide protection against the damages caused by the loss of water. The selection of high drying temperature tolerant genotypes provides better efficiency in the stages of seed production. In this context, three experiments were carried out at Universidade Federal de Lavras (UFLA) and Universidade de Brasília (UnB). In one of the experiments, the differences in physiological quality of some corn lines seeds, harvested at 35% RH and submitted to a drying temperature of 45° C, were investigated. The existence of genetic variability for the tolerance to high drying temperature was confirmed. In the second experiment, the genetic control for tolerance towards high drying temperature was studied. For this purpose, 6 tolerant and 6 intolerant lines for high drying temperature were evaluated in a 6 x 6 partial diallel plus the parental lines. The effects of the general (CGC) and specific (CEC) ability of combination, and the reciprocal effects were significant for the high drying temperature tolerance. It was verified the predominance of reciprocal effect indicating that tolerance to high drying temperature can be explained by maternal effect. In the third experiment, biochemical and anatomical changes related to the prevention of injuries caused by drying were investigated, including α -amylase's activity, electrophoretical patterns of heat-resistant proteins and physical analysis of the seed pericarp. Tolerant and intolerant to high drying temperature seed lines were utilized, and seeds dried under shadow, as seeds from hybrids with significant reciprocal effect. The α -amylase enzyme was extracted from germinated seeds from each material, with TRIS- HCl 0,2 M buffer, and the heat resistant proteins, in TRIS-HCl 0,05 M buffer, using SDS-PAGE. Greater band intensity for the α -amylase was verified for seeds from the tolerant lines to high drying temperature. Hybrid seeds from the respective reciprocal hybrids, which presented differences in the physiological quality of seeds, evaluated by the germination test, also had differences in α -amylase's activity. For the heat resistant proteins, the electrophoretic patterns were similar among the hybrid and reciprocal seeds. Differences in the tolerance to high drying

* Guidance Committee: Dra. Édila Resende Von Pinho – UFLA (Major Professor), Dr. Renzo Garcia Von Pinho and Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

temperature were related to the physical characteristics of the pericarp. A less dense structure of the pericarp, formed by less compact cells, reflected positively over the physiological quality of seeds.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A demanda por sementes híbridas de milho com qualidade tem exigido das empresas produtoras padrões de qualidade mais rígidos, aliados a sistemas produtivos mais rentáveis. A produção de sementes é uma atividade especializada e cuidados devem ser tomados em todas as etapas do processo.

A colheita deve ser efetuada no momento adequado, com o intuito de reduzir ao máximo as possíveis perdas qualitativas e quantitativas. O atraso da colheita contribui substancialmente para a deterioração das sementes, uma vez que as mesmas estão sujeitas às condições adversas no campo.

Ao atingir o ponto de maturidade fisiológica, a semente ainda se apresenta com elevados teores de água, o que inviabiliza a colheita mecânica de grãos. Neste contexto, a colheita das sementes de milho em espiga, com elevado teor de água, deve ser preferivelmente realizada objetivando a obtenção de sementes com qualidade física, fisiológica e sanitária superiores. Esse método de colheita permite, ainda, a viabilização das estruturas de produção, de secagem e de beneficiamento, devido à liberação de áreas de plantio mais cedo e à antecipação da secagem e beneficiamento, obtendo-se, dessa forma, um melhor planejamento de colheita.

Entretanto, nesse tipo de colheita, as espigas devem ser submetidas ao processo de secagem artificial para a redução do conteúdo de água das sementes a níveis adequados ao armazenamento. O aumento da eficiência na operação de colheita tem estimulado práticas de secagem mais rápida. Expor sementes com altos teores de água a temperaturas elevadas durante a secagem artificial pode resultar em redução da qualidade das mesmas, conduzindo à baixa germinação, ao baixo vigor das plântulas e à redução do estande. Sabe-se que a

susceptibilidade da semente aos danos por secagem é função das condições de secagem, da qualidade e do teor de água iniciais da semente, aliados aos aspectos genéticos.

Vários mecanismos têm sido envolvidos na aquisição e manutenção da tolerância à dessecação, conferindo proteção contra os danos provocados pela perda de água (Guimarães, 1999). Importantes mudanças metabólicas e bioquímicas envolvidas na prevenção de injúrias causadas por alta temperatura de secagem têm sido estudadas em sementes de milho (Rosa et al., 2000; Perdomo & Burris, 1998 e Seyedin et al., 1984), como a eficiência da taxa respiratória, a atividade da enzima α -amilase e a degradação de grãos de amido. Outro mecanismo estudado na adaptação da semente à condição de estresse provocado pelo calor é a indução das proteínas resistentes ao calor (Queitsch et al., 2000). Características morfológicas das sementes, como a espessura e a estrutura do pericarpo, também têm sido relacionadas com a qualidade das sementes após secagem artificial (Burris & Navratil, 1980).

Para sementes de milho parece existir variabilidade genética com relação à injúria por secagem, permitindo a seleção de cultivares tolerantes a altas temperaturas de secagem. A seleção dessas cultivares proporcionaria redução no tempo de secagem das sementes. Essa redução é muito significativa nos programas de controle de qualidade de sementes, por ser a secagem considerada uma etapa crítica durante o processo de produção de sementes.

No entanto, o controle genético da tolerância a altas temperaturas de secagem não está bem elucidado. O conhecimento desse controle é fundamental para diminuir o trabalho e o custo nos programas de melhoramento, permitindo o direcionamento durante o processo de seleção.

Desse modo, os objetivos desta pesquisa foram avaliar a variabilidade genética para tolerância à alta temperatura de secagem de sementes de linhagens de milho; estudar o controle genético das características relacionadas com a

tolerância das sementes de milho à alta temperatura de secagem e correlacionar esta tolerância com aspectos fisiológicos, bioquímicos e anatômicos das sementes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Desenvolvimento da semente de milho e tolerância à dessecação

2.1.1 Formação da semente

O processo de desenvolvimento das sementes ocorre basicamente em três estágios, sendo o primeiro caracterizado pela fertilização, divisão celular e histodiferenciação dos principais tecidos. Durante o segundo estágio ocorre grande acúmulo de proteína, lipídeo e amido, que pode ser comprovado pelo aumento no peso seco das sementes. No terceiro estágio as sementes atingem o ponto de maturidade fisiológica, que culmina com a dessecação e paralização da deposição de reservas (Raghavan, 1986 e Adams & Rinne, 1980). O estudo do desenvolvimento de sementes visa determinar o ponto no qual a semente pode ser desligada da planta mãe, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica.

Na fertilização, em que uma das células espermáticas do grão de pólen funde-se à oosfera para formar o zigoto, ocorre a restauração do número diplóide de cromossomos próprio das células somáticas do milho. A outra célula espermática funde-se a um tecido formado a partir da diferenciação dos dois núcleos polares, dando origem a uma estrutura triplóide, que formará o endosperma. Sendo assim, o zigoto que dará origem ao “híbrido” possui 50% da informação dos cromossomos de origem paterna e 50% de origem materna. Já no endosperma, 66,66% dos cromossomos são de origem materna e 33,33%, paterna (Veit et al., 1993).

O acúmulo de substâncias de reserva começa no estágio de diferenciação e continua durante a maturação. É sabido que no final da maturação as células do endosperma morrem, enquanto as da camada de aleurona permanecem em atividade e sobrevivem à desidratação (Olsen et al., 1992). Assim, no final do estágio de diferenciação, células da camada de aleurona e do endosperma amiláceo são formadas, sendo essas os dois principais tipos de células.

Como o endosperma acumula uma grande quantidade de substâncias de reserva, no momento da maturação da semente não consegue mais realizar suas atividades fisiológicas, sendo incapaz de sintetizar enzimas. Logo, considera-se o endosperma como sendo um tecido morto (De Mason et al., 1983), o que não acontece com a camada de aleurona pelo fato de diferenciar-se em um tecido digestivo especializado na secreção das enzimas mobilizadoras de reservas do endosperma durante a fase de germinação. Sabe-se que a atividade das enzimas presentes na camada de aleurona é iniciada na presença de ácido giberélico, secretado pelo embrião durante a sua germinação (McCarty & Carson, 1991).

Embora se saiba que células do endosperma morrem na maturidade, as características deste processo de degeneração durante o desenvolvimento não têm sido estudadas. Com este objetivo, Golovina et al. (2000) investigaram o comportamento das células do endosperma do grão de trigo desde o início do seu desenvolvimento. Foi observado que durante o desenvolvimento, a quantidade relativa de células do endosperma com membranas intactas diminuiu e tornou-se quase inexistente na maturidade, isto é, alguns dias antes do início da secagem na maturação. O fato sugere que a morte dessas células é um fenômeno inerente ao desenvolvimento, ao invés de ser um fenômeno induzido pela perda de água. Mesmo aos oito dias após a antese, no início da fase de diferenciação do endosperma, uma proporção considerável de células do endosperma apresentou perda da integridade da membrana do plasma. Esta perda ocorre no início do processo de acúmulo de amido, indicando que os programas de

acúmulo de amido e de morte estão simultaneamente ligados. Também foi estudado, nesse trabalho, a habilidade potencial de células do endosperma não diferenciadas de adquirirem tolerância à dessecação. Antes que as células do endosperma se tornassem inviáveis, elas foram submetidas à secagem. Células do endosperma não foram tolerantes à secagem rápida, concluindo os autores que durante o desenvolvimento, tolerância à dessecação não é adquirida em células do endosperma amiláceo. Porém, células da camada de aleurona permaneceram vivas, tolerantes à dessecação e apresentaram aparência similar às células embriônicas. Células do endosperma em cereais parecem ter a mesma competência para adquirir tolerância à dessecação que as células embriônicas. Esta competência ocorre sob condições de secagem lenta ou durante diferenciação normal em células da camada de aleurona, mas é perdida quando as células se diferenciam em endosperma amiláceo.

Juntamente com a formação do embrião e do endosperma ocorre o crescimento das paredes do ovário que revestirão a semente, constituindo no pericarpo. O pericarpo é, portanto, um tecido materno independente da fertilização.

Em sementes de milho doce, Haddad (1931) determinou que o pericarpo consiste de dez camadas de células externas da parede de ovário, sendo o restante da parede totalmente reabsorvido. Também observou que as sementes híbridas apresentaram pericarpo mais fino que o das linhagens parentais, em todos os estágios de desenvolvimento.

2.1.2 Tolerância à dessecação

Sementes que são tolerantes a dessecação e sobrevivem no estado desidratado por períodos maiores, dependendo das condições de armazenamento, são designadas de ortodoxas (Pammenter & Berjak, 1999).

Estas sementes, após a histodiferenciação e antes da secagem na maturação, adquirem a habilidade para germinar e tolerar a dessecação (Bewley & Black, 1994). Contudo, essa tolerância a secagem não é uniforme durante todo o processo de desenvolvimento das sementes. Não se pode afirmar se a tolerância à dessecação é desenvolvida antes ou em resposta à perda de água durante a maturação (Bewley, 1979).

A tolerância à dessecação é uma característica quantitativa, adquirida progressivamente. A taxa de secagem influencia a resposta à desidratação de sementes ortodoxas em desenvolvimento (Bewley & Black, 1994) e a tolerância à dessecação de tecidos vegetativos. Maior tolerância à dessecação das sementes é observada na secagem lenta, presumivelmente devido ao tempo concedido para a indução e operação dos mecanismos de proteção. A secagem rápida impede os processos de recuperação, sendo necessário mais tempo para os reparos na reidratação (Oliver & Bewley, 1997, citados por Pammenter & Berjak, 1999).

Embora a secagem lenta em estágio apropriado pareça acentuar a capacidade germinativa, existem outros fatores que podem inibi-la, como baixos potenciais hídricos, altas concentrações de ABA, tecidos que circundam o embrião, impossibilitando, assim, a avaliação da tolerância à dessecação pela capacidade germinativa (Leprince et al., 1993).

Sementes secadas lentamente, por vários dias, continuam a metabolizar e desenvolver-se até que um nível crítico de teor de água seja alcançado, conseqüentemente, a tolerância à dessecação pode aumentar durante este lento processo de secagem e sua avaliação não corresponderá ao estágio de desenvolvimento em que se encontrava a semente antes do início de secagem. Embora a secagem lenta seja usada como um método para simular a dessecação tal qual ocorre na maturação, a secagem rápida é a forma mais adequada para

avaliar o grau de tolerância à dessecação em um estágio específico do desenvolvimento (Pammenter et al., 1991).

Sementes de milho sofrem desidratação natural após a maturidade fisiológica e, à medida que perdem água lentamente, tornam-se mais tolerantes às temperaturas de secagem mais elevadas. Este fato foi comprovado por Herter & Burris (1989d), que submetendo sementes de milho com umidade de colheita na faixa de 38-48% à secagem inicial sob baixa temperatura (35°C), e posteriormente transferidas para um ambiente de secagem a 50°C, observaram aceleração no processo de maturação que normalmente ocorre no campo até a colheita com teores de água entre 20-25%, tornando as sementes colhidas com elevado conteúdo de água tolerantes a secagem posterior à 50°C. Segundo Hong & Ellis (1992), Kermodé & Bewley (1989) e Kermodé et al. (1989), a aquisição da tolerância à dessecação é adquirida coincidentemente com a capacidade para germinar e a secagem após a maturidade age para completar o processo de desenvolvimento e iniciar aqueles processos metabólicos para preparar as sementes para germinação e crescimento.

Rosa (2000), trabalhando com sementes de milho colhidas em espiga com altos teores de água, próximo à maturidade fisiológica, observou que as sementes foram tolerantes a secagem à temperatura de 35°C e intolerantes à temperatura de 50°C. No entanto, pré-secagem inicial à temperatura de 35°C induziu tolerância à temperatura de 50°C, a qual foi adquirida gradativamente à medida que as sementes perderam água, e foi máxima com teores de água entre 25,3 e 28,5%. As sementes intolerantes à temperatura de 50°C apresentaram baixa germinação e vigor, além de baixa atividade da α -amilase. A autora observou que a atividade da α -amilase aumentou com a elevação dos períodos de pré-condicionamento, à medida que as sementes adquiriram tolerância à temperatura de 50°C. Ficou evidenciado, nesse trabalho, a necessidade da redução no teor de água das sementes para que ocorra a síntese desta enzima,

permitindo o início do processo germinativo após a reidratação. Embora as sementes secas continuamente a 50°C tenham sofrido redução do teor de água até próximo de 12%, não apresentaram a mesma atividade enzimática daquelas que já haviam adquirido tolerância à alta temperatura, indicando que os danos causados às sementes em estádios intolerantes parecem também estar relacionados à síntese das enzimas necessárias à degradação do amido para o crescimento do embrião.

Importantes mudanças metabólicas e bioquímicas na prevenção de injúrias causadas por altas temperaturas de secagem têm sido estudadas em sementes de milho. Diferentes níveis de tolerância são expressos dependendo do ambiente no qual as sementes são pré-condicionadas. Espigas de milho foram colhidas com alta umidade (450-500 g de água/ Kg) e pré-condicionadas (PC) para prevenir injúrias devido à subsequente secagem a alta temperatura (45°C). O PC foi conduzido sob diferentes ambientes (35°C/35% de umidade relativa (UR); 35°C/90%UR; 20°C/35%UR e 20°C/90%UR) e foram determinados os níveis de deterioração em termos de reservas, atividade enzimática, respiração e mudanças ultraestruturais no meristema radicular. As taxas respiratórias foram significativamente maiores em sementes pré-condicionadas à temperatura de 35 do que a 20°C. Após 48 horas de PC, a atividade da enzima amilase estava presente principalmente em sementes pré-condicionadas a 35°C/90%UR. Sementes submetidas a esse tratamento também apresentaram degradação dos grãos de amido, que se concentra primeiramente na base do escutelo, adjacente ao meristema radicular. Durante o PC foram observadas a migração dos corpos lipídicos para a parede celular das células meristemáticas da raiz e a formação dos corpos protéicos dentro dos vacúolos. Essas mudanças foram mais evidentes em sementes cujos tratamentos permitiram uma maior taxa de secagem, ou nas sementes mais maduras. A mitocôndria permaneceu intacta na maioria dos tratamentos, sem nenhum prejuízo a sua integridade (Perdomo & Burris, 1998).

Devido ao fato de a água afetar as condições da célula de muitas maneiras, os tecidos que sobrevivem à sua remoção têm uma combinação de estratégias para limitar os danos resultantes da desidratação. Organismos que sobrevivem à remoção de água possuem constituintes celulares protegidos ou reparados (Walters et al., 2001)

Vários mecanismos têm sido envolvidos na aquisição e manutenção da tolerância à dessecação, conferindo proteção contra as conseqüências da perda de água, em diferentes níveis de hidratação. Porém, nenhum mecanismo é, por si só, responsável por esta tolerância; cada componente é igualmente crítico, atuando em sinergismo e controlado no nível genético (Leprince et al. 1993). A ausência ou inefetiva expressão de um ou mais destes mecanismos determinam o grau relativo de sensibilidade à dessecação (Pammenter & Berjak, 1999). Sementes que toleram a dessecação dispõem de alguns mecanismos de proteção capazes de manter os sistemas de membranas das células, as estruturas das macromoléculas e as substâncias de reserva em condições de readquirir suas funções fisiológicas quando as sementes são reembebidas. O desenvolvimento destes mecanismos depende de características genéticas das espécies que determinam a presença de substâncias como açúcares solúveis, anti-oxidantes, enzimas que atuam contra o sistema de oxidação lipídica e proteínas específicas (late embryogenesis abundant proteins – LEA proteínas). Apesar de serem determinados geneticamente, a presença destes mecanismos pode ser intensificada ou reduzida de acordo com a taxa de secagem da semente ou com o meio ambiente no qual a semente se desenvolveu (Guimarães, 1999).

O acúmulo de açúcares não reduzidos tem sido envolvido na tolerância à dessecação. Tecidos tolerantes têm sido caracterizados por apresentarem alta quantidade de sacarose e oligossacarídeos (estaquiose ou rafinose) e ausência ou reduzida quantidade de monossacarídeos redutores, como a galactose, manose, frutose e glicose (Chen & Burris, 1990; Leprince et al., 1992 e Kuo et al., 1998).

No entanto, o amido pode ser hidrolizado para produzir sacarose e outros oligossacarídeos que se acumulam quando as sementes ortodoxas sofrem secagem na maturação (Pammenter & Berjak, 1999). Os oligossacarídeos estão amplamente distribuídos em muitas espécies de sementes, localizados em tecidos que permanecem viáveis após a dessecação, incluindo o embrião e a camada de aleurona de cereais (Brenac et al., 1997).

Durante a desidratação, açúcares específicos podem prevenir os efeitos danosos da dessecação sobre as membranas celulares (Pammenter & Berjak, 1999), podem promover a vitrificação ou formação de vidro dentro do citoplasma (Burke, 1986) e estabilizar proteínas (Darbyshire, 1974).

Durante a maturação das sementes ocorrem mudanças na natureza das proteínas a serem sintetizadas. A dessecação de sementes em desenvolvimento é caracterizada pelo acúmulo de um grupo particular de mRNA's e proteínas LEA's (late embryogenesis accumulated) relacionadas. LEA mRNA's aparecem em tecidos embrionários, no começo da dessecação, e tornam-se as mais prevalentes espécies de mRNA no estado seco, declinando progressivamente várias horas após embebição da semente. A regulação dos genes LEA parece ser principalmente transcricional, pois onde o ABA desempenha um importante papel, embora em alguns casos a regulação pós transcricional seja relatada (Baker et al. (1988); Galau et al. (1991); Robertson & Chandler (1992) e Williamson & Quatrano, 1988). Para Kermode (1997), a regulação da expressão dos genes LEA provavelmente envolve componentes de outras vias de tradução de sinais além do ABA.

Essas proteínas robustas são ricas em glicina e outros aminoácidos hidrofílicos e apresentam poucos resíduos hidrofóbicos (Baker et al. (1988); Dure et al. (1989); Piatkowski et al. (1990) e Lane (1991), citados por Guimarães (1998)). São extraídas em condições de alta temperatura, não apresentando nenhuma atividade catalítica aparente. Estas proteínas resistentes

ao calor, por sua natureza conservada, propriedades físicas e abundância, tem sido associada com a tolerância à dessecação das sementes (Blackman et al., 1991; Kigel & Galili, 1995).

O grupo de LEAs que tem recebido maior atenção é a família LEA D11, também conhecida como deidrinas. Além do seu acúmulo durante a fase final da embriogênese, estas proteínas também são produzidas por partes vegetativas das plantas, em resposta à baixa temperatura, à aplicação de ABA ou a tratamentos que impõem um estresse hídrico. As deidrinas têm sido encontradas associadas com algumas macromoléculas. Estas proteínas, devido a sua natureza anfipática, são capazes de inibir a desnaturação de macromoléculas e estabilizar estruturas intracelulares sob condições de estresse, incluindo estresse hídrico severo (Blackman et al. (1995) e Close (1997)).

Foi sugerido que as proteínas LEAs podem ligar íons e água, podendo também estar associadas com os açúcares, controlando a taxa de perda de água, mantendo, assim, a viabilidade das sementes ortodoxas no estado seco (Walters et al., (1997), citados por Pammenter e Berjak, 1999).

Outra classe de proteínas que apresenta o mesmo padrão temporal de expressão das proteínas LEA's são as proteínas resistentes ao calor (Heat Shock Proteins (HSP)), expressas durante o desenvolvimento das sementes.

Os organismos, quando submetidos à temperatura elevada, reagem a esse estresse, induzindo uma transição na expressão dos genes, que na sua maioria interrompem ou atenuam a sua expressão. Um grupo específico de genes, chamado HS genes (heat shock), é rapidamente induzido em níveis elevados sob condições de estresse (Schlesinger et al., 1982, citados por Gurley, 2000). Um dos mecanismos mais estudados na adaptação dos organismos à condição de estresse é a indução das proteínas resistentes ao calor, "heat shock proteins" (HSPs), o qual inclui várias famílias de proteínas conservadas. Proteínas codificadas por esses genes capacitam as células a sobreviverem aos

efeitos nocivos do calor. A maior parte das HSPs, que são expressas em resposta ao calor e outros estresses, tem funções relacionadas e ameniza problemas causados pela agregação e má estruturação de proteínas. Entretanto, cada família tem um único mecanismo de ação; algumas promovem a degradação de proteínas mal estruturadas, outras juntam diferentes tipos de estruturas intermediárias, prevenindo-as da agregação (Hsp70 e Hsp60), e outras promovem a reativação de proteínas que tenham sido agregadas (Hsp100). Sendo assim, acredita-se que essas proteínas têm uma função na estabilidade da conformação das proteínas, sugerindo um papel importante no mecanismo de tolerância a dessecação em sementes. Segundo Vertucci & Farrant (1995), a função das HSP tem sido relacionada tanto na preservação como no reparo das estruturas macromoleculares durante a desidratação ou reidratação, respectivamente. Embora todos os organismos sintetizem HSPs em resposta ao calor, o balanço de proteínas sintetizadas e a relativa importância das famílias individuais de HSP na tolerância a estresse variam enormemente entre organismos (Queitsch et al. 2000).

As principais classes das HSPs, citadas por Hong e Vierling (2000), estão presentes em plantas e incluem proteínas de peso molecular variando de 15 a 28 Kda; Hsp60; Hsp70; Hsp90 e Hsp100 (Gurley, 2000). A Hsp101, que é requerida para a termotolerância em bactéria e levedura, é também essencial para a termotolerância em eucariontes.

Essas proteínas resistentes ao calor foram identificadas em eixos embrionários de sementes de soja por Blackman et al. (1991). O nível destas proteínas foi correlacionado com a tolerância à dessecação tanto na fase de desenvolvimento como na germinação das sementes, aumentando 44 dias após florescimento, quando a tolerância à dessecação foi alcançada, e diminuindo após 18 horas de embebição, quando a tolerância foi perdida. Um conjunto de sete proteínas estáveis ao calor estava consistentemente presente quando a

sementes estavam tolerantes à dessecação. Este conjunto continha três proteínas com pesos moleculares de aproximadamente 70, 64 e 25,5 kD e um grupo de quatro proteínas com peso molecular variando de 32 a 40 kD. Sementes de soja em desenvolvimento acumulam proteínas da maturação estáveis ao calor, porém, o desenvolvimento da tolerância à dessecação não se correlaciona com este acúmulo. Segundo os autores, a habilidade ou a falta de algum fator para expressar LEAs ou proteínas semelhantes às deidrininas por si próprias não pode ser tomadas como um indicativo de que as sementes de uma espécie em particular pode ou não resistir à desidratação.

2.2 Ponto de colheita e sensibilidade das sementes à injúria por secagem

Definir o melhor momento da colheita, a partir do ponto de maturidade fisiológica das sementes, é de fundamental importância. A colheita deve ser efetuada no momento adequado, com o intuito de reduzir ao máximo as possíveis perdas qualitativas e quantitativas. Um maior ou menor decréscimo na qualidade das sementes ocorre em função das condições ambientais durante o desenvolvimento das sementes até a colheita, e também das injúrias mecânicas na colheita e beneficiamento (Abdul-Baki & Anderson, 1972; McDonald Jr., 1975 e Fontes, 1980).

Embora o teor de água das sementes seja uma característica utilizada para determinação da maturidade fisiológica, esse varia entre genótipos e condições do ambiente (Knittle & Burris, 1976 e Hunter et al., 1991). Por meio de pesquisas tem sido demonstrado que a maturidade das sementes de milho pode ocorrer em conteúdo de água em torno de 28 a 42%, dependendo do genótipo em questão (Daynard & Duncan, 1969; Rench & Shaw, 1971 e Carter & Poneleit, 1973). As mudanças nas características morfológicas das sementes têm sido usadas no desenvolvimento de métodos para determinar a maturidade

de sementes, como a presença ou formação da camada negra e o desaparecimento da linha de leite, que corresponde à transição entre o endosperma leitoso e o farináceo, as quais apresentam boa correlação com a maturidade fisiológica (Hunter et al., 1991; Von Pinho, 1997; Guimarães, 1999). Mudanças fisiológicas das sementes também têm sido estudadas (Rosa, 2000).

A maturidade fisiológica é o momento em que a semente atinge o seu máximo peso de matéria seca, sendo um referencial importante da independência da semente em relação à planta mãe. No entanto, o máximo peso de matéria seca nem sempre coincide com a máxima qualidade fisiológica, isto é, de máxima germinação e vigor (Guimarães, 1999; Von Pinho, 1997).

Para Borba et al. (1995), a máxima qualidade, avaliada por meio do teste de germinação e do teste de envelhecimento artificial, coincidiu com a maturidade fisiológica em sementes do híbrido simples HS 200. Também Tekrony & Hunter (1995) demonstraram que o máximo vigor de sementes de milho oriundas de diferentes genótipos ocorreu na maturidade fisiológica, que foi determinada pela formação da camada negra. Nessa mesma pesquisa, em plantas que foram submetidas a uma condição de estresse como a desfolha ou alta temperatura durante desenvolvimento da semente, foram observados menor peso seco de sementes e menor período para alcançarem a maturidade, porém o máximo vigor dessas sementes ocorreu no mesmo estágio das plantas, independentemente das condições de estresse.

Diante do exposto, as sementes de milho poderiam ser colhidas no ponto de maturidade fisiológica. No entanto, nesta fase, a colheita mecanizada em grãos fica inviabilizada devido ao alto teor de água das sementes, o que as predispõe à maior incidência de danos mecânicos. Apesar da colheita mecanizada em grãos ser bastante difundida, a colheita de sementes de milho em espigas tem aumentado significativamente na indústria de sementes. A adoção do sistema de colheita em espiga permite que a colheita de sementes de milho

seja efetuada próximo ao ponto de maturidade fisiológica, obtendo-se sementes de qualidade fisiológica superior, tendo em vista a possibilidade de colheita antecipada e menor incidência de danos mecânicos que normalmente ocorrem durante a colheita mecanizada, além da possibilidade da realização do processo de seleção de espigas, visando o descarte das espigas atípicas, mal formadas, infestadas e que diferem do padrão da cultivar em questão (Scaranari, 1997).

A colheita antecipada em espigas permite, ainda, a viabilização das estruturas de produção, de secagem e de beneficiamento. No entanto, o aumento da eficiência nesse tipo de colheita requer uma secagem mais rápida, com a adoção de temperaturas de secagem e vazões de ar mais elevadas. Entretanto, temperaturas altas reduzem a germinação e o vigor das sementes (Toledo & Marcos Filho, 1977).

Quando a água é removida das sementes durante o processo de secagem, há pelo menos três tipos de danos a serem considerados: dano mecânico associado com a redução do volume celular; processos degradativos, podendo ser mediados por radicais livres, provavelmente conseqüentes de uma desorganização metabólica em conteúdos intermediários de água. O dano ocorrido por meio desses processos pode ser considerado como “dano metabólico induzido”. Esse dano é considerado o resultado direto da imposição de um severo estresse hídrico no tecido metabolicamente ativo. A causa imediata da sensibilidade à dessecação é a inabilidade que o tecido tem de se tornar tolerante à dessecação e se proteger adequadamente contra as conseqüências da desidratação do tecido que está ativamente metabolizado. Por último pode-se citar o dano devido à perda da integridade estrutural, que pode ser considerado como um dano de dessecação “sensu stricto”, já que a água está associada às superfícies macromoleculares, incluindo as membranas, mantendo sua integridade (Pammenter & Berjak, 1999).

A susceptibilidade das sementes aos danos por secagem é função das condições de secagem como temperatura, tempo de exposição às altas temperaturas, volume e pressão estática do ar de secagem, velocidade e método de secagem, qualidade e teor de água iniciais da semente, além dos aspectos genéticos (Navratil & Burris, 1984; Herter & Burris, 1989a; Chen & Burris, 1990 e 1991).

A remoção de água das sementes durante a secagem pode causar alterações químicas, físicas e biológicas, tornando críticas as condições de realização da secagem, as quais devem ser escolhidas tendo em vista, primordialmente, os efeitos que podem ter sobre a qualidade das sementes.

O processo de secagem não aumenta a porcentagem de sementes quebradas, mas pode provocar fissuras internas ou superficiais, tornando as sementes mais suscetíveis à quebra durante o beneficiamento (Gustafson et al., 1978; Gustafson & Morey, 1981).

Em sementes, as principais conseqüências de trincas e fissuras são a redução da capacidade de regulação de trocas hídricas e gasosas e o aumento da susceptibilidade à ação de microrganismos, insetos e produtos químicos de tratamento (Moore, 1974; Soave & Moraes, 1987; Wetzell, 1987 e Carvalho & Nakagawa, 1988).

Uma possibilidade de minimizar os danos por secagem tem sido a hipótese sugerida por McDonald et al. (1988), citados por Allen et al. (2000), envolvendo a redistribuição da água dentro das sementes para reduzir a dessecação do embrião. A idéia é de que tecidos não embriônicos podem servir como um reservatório de água para a germinação. A água contida no endosperma das sementes pode, similarmente, servir tanto para reduzir a taxa quanto o grau de estresse causado pela desidratação no embrião. Para efetivar esta idéia, o endosperma teria que se posicionar de tal forma a permitir o

movimento da água para o embrião durante o processo de secagem. Anatomicamente isto ocorre na maioria dos cereais.

A causa primária do dano produzido por altas temperaturas em tecidos vegetais é, conforme Daniel et al. (1969), a desintegração do sistema de membranas celulares, possivelmente por alterações nos lipídeos que as constituem. Quando a água é removida das sementes durante o processo de secagem, ocorre a perda da integridade estrutural das membranas, já que a água está associada às superfícies macromoleculares, mantendo sua integridade (Pammenter & Berjak, 1999).

Na secagem de sementes, os tonoplastos e plasmodesmos, que normalmente retêm solutos, perdem a sua integridade, deixando de agir como barreira durante a embebição (Bewley & Black, 1992). Se esta for muito rápida ou extemporânea não ocorre a reconstituição das mesmas, ocorrendo perda dos solutos e conseqüente queda no vigor da semente.

Reduções na qualidade fisiológica das sementes são, em geral, acompanhadas pelo aumento na liberação de eletrólitos e açúcares pelas sementes embebidas em água, relacionado à perda de permeabilidade seletiva das membranas celulares (Vieira, 1994). Baker et al. (1991) reforçaram a hipótese de que a redução da germinação, com secagem a altas temperaturas, é devida a danos na membrana celular ou à desorganização de componentes celulares. Sendo assim, a utilização de testes de vigor é muito útil para o acompanhamento da perda da qualidade das sementes no processo de produção, uma vez que a perda de vigor precede a perda da viabilidade.

Rosa et al. (2000) demonstraram que existem danos em sistemas de membranas de sementes, associados ao processo de secagem, detectáveis pelo teste de condutividade elétrica, o qual é eficiente para diferenciar lotes com diferentes danos causados pela secagem. Quando as sementes de milho foram

pré-embebidas lentamente antes da instalação do teste, houve uma alta correlação dos valores de condutividade com os outros parâmetros de qualidade.

Temperaturas elevadas de secagem ainda podem resultar em redução no número e tamanho do grão de amido em eixo embrionário de sementes de milho. Uma maior lixiviação de açúcares e hidrólitos ocorreu em sementes secadas a 50°C em relação às secadas a 35°C, podendo ser um indicativo do aumento da permeabilidade das membranas, em razão de maiores danos nos componentes das membranas celulares (Seyedin et al., 1984). Por outro lado, Herter & Burris (1989b) sugeriram que o aumento da permeabilidade das membranas seria apenas um dos fatores responsáveis pelo dano térmico, podendo a integridade do pericarpo, por exemplo, afetar a condutividade elétrica dos exsudatos liberados pelas sementes de milho.

Assim como nos danos causados por secagem, as membranas são tidas como o local em que ocorrem os danos por embebição à baixa temperatura (“imbibitional chilling”), reduzindo a germinação e o crescimento de plântulas. (Herter & Burris, 1989c). O efeito negativo da baixa temperatura sobre a germinação e desenvolvimento da plântula é chamado de dano por resfriamento e está relacionado, provavelmente, com a danificação da membrana, acarretando em perda de vários compostos orgânicos do eixo embrionário, principalmente nucleotídeos. Para a detecção dos danos ocasionados pela alta temperatura de secagem, o teste frio tem apresentado maior sensibilidade que o teste de germinação. Altas temperaturas de secagem podem alterar as membranas e com isso, reduzir a tolerância ao frio, como sugerido por Navratil & Burris (1984).

Espigas de milho colhidas com 48% de umidade foram secadas inicialmente a 50°C, e depois a 35°C, estado no qual permaneceram até que o teor final de água das sementes atingisse 12%, sendo então submetidas aos testes de germinação (TG), teste frio (TF) e de condutividade elétrica. A injúria às membranas pela secagem, avaliada pelo teste de condutividade elétrica, teve

maior importância ou não, dependendo da linhagem, sendo que outros tipos de danos puderam afetar a viabilidade, sem aumentar os valores de condutividade elétrica. Com esses resultados, os autores Herter & Burris (1989b) inferiram que a desestruturação do sistema de membranas é um dos danos ocasionados pelo processo de secagem.

Paralelamente é aceita a teoria de que o calor excessivo provoca, entre outras alterações, a desnaturação de proteínas. Segundo Herter & Burris (1989a), danos térmicos às sementes são caracterizados pela ruptura de ligações peptídicas de proteínas e outros componentes celulares, sendo que o início do efeito deletério, durante secagem à alta temperatura, coincidiu com o início da secagem do embrião; contudo, não foi possível concluir se a perda de água do embrião é a causa principal da injúria. Altas temperaturas de secagem, segundo Wall et al (1975), citados por Peplinski et al. (1994), podem diminuir a solubilidade e a capacidade de ligação das proteínas, bem como a atividade enzimática.

Peplinski et al. (1994) observaram perda das proteínas classificadas como albuminas com o aumento da temperatura de secagem em sementes de milho. Quando as sementes, colhidas com 30% de teor de água, foram secadas a 25-55°C, apresentaram albuminas com bandas de pesos moleculares entre 25-70 kDa, desaparecendo na temperatura de 70°C e quase inexistentes a 85-100°C. Não foi revelada nenhuma mudança nos padrões de prolaminas nas sementes secadas a altas temperaturas de secagem, sugerindo que essas proteínas podem não ser tão facilmente desnaturadas como as albuminas. Quanto a viabilidade, apenas 29% das sementes foram viáveis na temperatura de secagem de 55°C e totalmente inviáveis nas temperaturas mais elevadas. Com o aumento da temperatura, o peso das sementes e a germinação diminuíram e a suscetibilidade à quebra aumentou (Peplinski et al.,1994).

Para estudar as mudanças morfológicas e fisiológicas associadas com a secagem em embriões de milho, sementes de milho híbrido foram colhidas em espiga, com teor de água de 30-36%, e submetidas à secagem artificial nas temperaturas de 35 e 45°C; à secagem natural, sob condição ambiente, a 23°C; ou então debulhadas e secadas em secadores a 35°C, sendo esta considerada uma secagem rápida. Pela análise do peso seco da plântula, pôde-se observar uma maior sensibilidade da radícula à injúria por secagem, com maior proporção da relação peso seco da parte aérea/ radícula na secagem rápida. Embora estudos prévios tenham mostrado um aumento na lixiviação de exudatos das sementes com o aumento da temperatura de secagem, houve pouca diferença entre as três temperaturas utilizadas na secagem em espigas. Apesar de a secagem a 45°C em espigas ter resultado em algum aumento na condutividade, esta injúria às membranas foi muito menor e não pode ser associada com as mesmas fontes de eletrólitos dos materiais secados rapidamente. O grande aumento de lixiviados observados em sementes secadas rapidamente sugere a importância dos corpos lipídicos alinhados adjacentes à parede celular da radícula dos eixos embrionários, contribuindo para o controle de lixiviados pela membrana. Nas sementes submetidas a uma taxa de secagem moderada (23°C, 35°C ou 45°C), os corpos lipídicos parecem ter sido movimentados para fora do citoplasma e ficado firmemente alinhados à plasmalema. Na secagem rápida, houve uma distribuição aleatória destes corpos através do citoplasma com um moderado alinhamento. Foi constatado ainda, nessa pesquisa, que a temperatura elevada de secagem resultou em mitocôndria com cristas pouco visíveis, diferentemente das sementes secadas a 35°C, que apresentaram cristas mitocondriais bem definidas e membranas internas e externas aparentemente intactas. A mais alta taxa de consumo de oxigênio durante a embebição dos eixos embrionários de milho foi observada nas sementes secadas sob condição ambiente, seguidas pelos tratamentos conduzidos nas temperaturas de 35°C e, finalmente, à de 45°C.

Análise molecular revelou que a proteína com peso molecular de 66 kDa da fração das proteínas não desnaturadas pelo calor e solúveis em água, extraídas de eixos embrionários, foi induzida pela secagem e acumulada em sementes de todos os tratamentos, sendo em menor porcentagem na secagem rápida a 35°C, devendo-se considerar também o tempo de secagem. Esta proteína tem apresentado uma relação com a família das LEAs proteínas (Burris et al., 1997).

Outra pesquisa realizada com o intuito de estudar o efeito da temperatura de dessecação sobre a funcionabilidade da mitocôndria durante os primeiros estágios de embebição das sementes foi conduzida por Madden & Burris (1995). Foram utilizadas sementes de milho híbrido, com teor de água inicial de 35 a 50%, cujo parental feminino era sensível à alta temperatura de secagem, as quais foram secadas artificialmente a 35°C (BT: baixa temperatura) ou a 45°C (AT: alta temperatura) até 12% de teor de água. A viabilidade das sementes, estimada pelo teste de germinação, foi maior que 90% para todos os tratamentos. No teste frio, houve uma redução na viabilidade das sementes que foram secadas a 45°C, quando comparada com a obtida à temperatura de 35°C. A umidade de colheita teve pouco efeito sobre o resultado do teste frio, comparada com a temperatura de secagem. À medida que a umidade de colheita diminuiu, as sementes tornaram-se mais tolerantes à alta temperatura de secagem. Para cada umidade de colheita, o tratamento AT teve uma maior relação da parte aérea/radícula que o BT. Quando embriões foram cultivados em meio de cultura, houve um atraso no início da elongação daqueles que foram secados a 45°C. A taxa de absorção de oxigênio das sementes secadas a 45°C foi menor que a 35°C e o desenvolvimento e funcionabilidade da mitocôndria foram prejudicados pela alta temperatura de secagem. Vale ressaltar que a mitocôndria é a fonte primária de energia durante a germinação, e um mecanismo para estabilização ou proteção de suas membranas internas durante a dessecação das sementes seria um elemento crítico para a germinação.

Um comentário feito por Ehrenshaft & Brambl (1990), citados por Burris & Madden (1993), é de que logo após a embebição das sementes, a absorção inicial de oxigênio pelos tecidos hidratados é geralmente atribuída à presença de um sistema enzimático mitocondrial nas sementes secas, que se tornam ativas quando hidratadas. Após completa a hidratação das sementes, a taxa respiratória parece depender de um contínuo desenvolvimento da mitocôndria, devido inicialmente à importação e organização de proteínas pré-existentes no citoplasma (Nakayama et al. (1990), citados por Burris & Madden (1993).

A injúria fisiológica causada pela secagem, além de refletir na estrutura da mitocôndria e na redução da taxa respiratória, pode ocasionar mudanças em outros sistemas subcelulares, incluindo cromossomas (Roberts, 1972 e 1981), bem como na produção de pigmentos carotenóides (Seyedin et al., 1984). Roberts (1981) sugeriu que, antes de prejudicar a porcentagem de germinação ou o desenvolvimento das plântulas normais, a secagem excessiva reduz a velocidade de germinação e, em casos mais severos, eleva a frequência de anormalidades nas plântulas.

A temperatura das sementes durante a secagem não deve ultrapassar determinados valores, que variam em função do teor de água com que as sementes se encontram no momento em que estão sendo expostas à corrente de ar aquecido (Toledo & Marcos-Filho, 1977 e Carvalho & Nakagawa, 1988). Sementes com teores de água mais elevados são mais sensíveis aos danos térmicos; por isso, quanto mais elevado o teor de água, menor deve ser a temperatura empregada na secagem (Carvalho & Nakagawa, 1988). Entretanto, segundo Herter (1987), o dano térmico ocorre durante a última fase da secagem, quando o teor de água da semente e a velocidade de secagem são menores devido à redução da velocidade de evaporação e à elevação da temperatura do embrião.

Brooker et al. (1974) recomendaram temperaturas de secagem máximas entre 40,5 e 43,3°C, acima das quais danos físicos ou químicos podem ser gerados. Por outro lado, se a temperatura de secagem for muito baixa, a duração do processo poderá ser prolongada, permitindo, assim, o desenvolvimento de fungos e acelerando o processo de deterioração das sementes.

De acordo com Baker et al. (1993), sementes de milho com teor de água acima de 25% são secadas a uma temperatura de 35°C, e aquelas com valores inferiores a 25%, a 40-43°C. Entretanto, estes autores salientaram que sementes de milho com teores de água acima de 25% podem ser secadas a uma temperatura de 43°C sem perda de germinação, e que essas sementes podem tolerar temperatura de secagem de 48°C, quando o teor de água é inferior. No caso de secagem de milho em espigas, a temperatura do ar de secagem varia entre 40 e 50°C, não devendo ultrapassar esse limite, segundo Amaral & Dalpasquale, (2000), para não comprometer a qualidade fisiológicas das sementes.

Baker et al. (1991) secaram espigas inteiras, meias-espigas e sementes debulhadas de milho às temperaturas de 32, 40, 48 e 56°C e observaram que a taxa de secagem variou entre os híbridos e a temperatura utilizada. Tamanho das espigas, formato e tipo de pericarpo podem ter influenciado no tempo de secagem das espigas entre os materiais estudados. Sementes híbridas que apresentaram secagem mais lenta também apresentaram menor germinação. Em geral, a germinação foi reduzida mais drasticamente com a secagem do milho debulhado em comparação com a secagem das espigas inteiras. Para os autores, estes resultados corroboram a hipótese de que secagem realizada sob condições de temperaturas elevadas reduz a germinação devido aos danos causados às membranas celulares ou à desorganização dos componentes celulares, mas discordam de que a redução da germinação seja função do efeito acumulativo da

exposição das sementes às condições de alto teor de água e elevada temperatura de secagem.

Para Burris & Madden (1993), o teor de água das sementes de milho durante a colheita teve pouco efeito sobre o vigor, avaliado pelo teste frio, comparado com a temperatura de secagem, sendo que a temperatura de 45° ocasionou maiores reduções no vigor que a de 35° C.

Infere-se, dessa forma, que a secagem, quando conduzida de forma inadequada, pode ocasionar danos irreversíveis às sementes, comprometendo a sua qualidade e conseqüente utilização. Durante o processo de secagem, o teor de água inicial interfere na germinação das sementes e também define a temperatura mais adequada a ser utilizada, sendo esta interferência dependente do genótipo estudado.

2.3 Controle genético para tolerância à secagem

Sabe-se que a tolerância à dessecação pode variar em função do genótipo, sendo essa característica importante durante o processo de seleção realizado nos programas de melhoramento.

Uma condição essencial para tornar eficiente qualquer programa de melhoramento genético é estudar, com relação à população base ou aos genitores escolhidos, os sistemas poligênicos que determinam as características quantitativas de interesse. Tal procedimento permitirá avaliar a variabilidade genética existente na população de referência ou no grupo de pais selecionados, bem como inferir sobre os tipos e as importâncias relativas das interações gênicas que atuam na determinação dos caracteres, favorecendo a escolha do processo seletivo que maximize os ganhos esperados com seleção. Para realizar estes estudos é comum o uso de um delineamento genético ou sistema de cruzamentos, como o dialelo (Wricke & Weber, 1986).

A expressão dialélica refere-se a todas as possibilidades de hibridações, realizadas aos pares, dentro de um grupo de parentais. O conceito de cruzamento dialélico foi apresentado por Griffing (1956) como o conjunto das p^2 combinações híbridas possíveis de serem obtidas a partir de p genitores. De acordo com Hallauer & Miranda Filho (1988), os esquemas e as análises de cruzamentos têm sido desenvolvidos com parentais cujas bases genéticas variam desde linhagens puras até variedades com ampla base genética.

Do ponto de vista teórico, por meio do estudo dos cruzamentos dialélicos pode-se entender melhor a natureza da ação gênica presente em caracteres de importância para a agricultura (Kempthorne, 1956). Já do ponto de vista aplicado, os cruzamentos dialélicos fornecem estimativas da capacidade geral de combinação (CGC) e da capacidade específica de combinação (CEC). A primeira caracteriza o comportamento do parental em várias combinações híbridas, enquanto a segunda caracteriza o comportamento de combinações híbridas específicas em relação à média dos parentais. Assim, a CGC está associada principalmente a genes de efeitos aditivos, mas também dominantes e epistáticos do tipo aditivo x aditivo; já a CEC depende basicamente de genes de efeitos dominantes e epistáticos do tipo dominante x dominante (Sprague & Tatum, 1942).

Em programas de melhoramento, o conhecimento dos componentes da capacidade de combinação é relevante na escolha dos parentais divergentes envolvidos em esquemas de cruzamentos, sobretudo quando se deseja desenvolver linhagens superiores e identificar híbridos promissores (Melo, 1987).

Do ponto de vista estatístico, os cruzamentos dialélicos podem ser analisados segundo os modelos fixo e aleatório. No primeiro, os parentais são escolhidos e não representam uma amostra de uma população. Isso implica que as conclusões somente são válidas para o material genético estudado, não

podendo ser extrapoladas ou generalizadas. Já no modelo aleatório, os parentais são amostras de uma população de referência, como, por exemplo, uma geração F2, e as conclusões tiradas em relação aos parâmetros da população (Lopes, 2001).

O grande interesse pelo assunto de cruzamentos dialélicos fez com que os conhecimentos evoluíssem, sendo desenvolvidos vários métodos de análise dialélica, como os desenvolvidos por Griffing (1956), objetivando estudar a capacidade de combinação dos pais, geral e específica, e se os híbridos recíprocos são incluídos, a presença de efeitos gênicos extranucleares.

A principal desvantagem do dialelo em sua forma tradicional é o elevado número de combinações híbridas resultantes, quando são muitos os genitores a serem considerados, o que pode ser limitante para obtenção e/ ou avaliação experimental, dependendo da espécie, de recursos humanos e financeiros disponíveis, entre outros fatores. Uma alternativa para contornar este problema é dividir os N progenitores em dois grupos, um com n e o outro com n' pais ($n + n' = N$), e utilizar o sistema dialelo parcial. Contudo, o dialelo parcial pode não ser simplesmente uma alternativa para a análise genética, mas sim a alternativa quando os N genitores estão, por alguma razão, separados em dois grupos (Viana, 1995).

A análise dialélica como um todo, incluindo a análise de variância, permite, portanto, um estudo do controle genético dos caracteres avaliados e a avaliação da variabilidade genética existente entre os pais. Permite também a análise do ganhos genéticos esperados com a seleção e os estudos de heterose (Jinks, 1955), de efeitos gênicos extranucleares e da interação efeito gênico x ambiente, no caso de avaliação experimental em mais de uma condição ambiental (Allard, 1956).

Embora a maioria dos caracteres dos organismos superiores seja controlado por genes nucleares, que segregam de acordo com o comportamento

dos cromossomos na meiose, existe outro grupo de caracteres que é herdado graças aos genes ou produtos gênicos presentes no citoplasma, no qual o gameta feminino contribui com quase a totalidade do citoplasma para o descendente. Assim, para estudar este tipo de herança, deve-se verificar se existe diferença entre os resultados de um cruzamento e de seu recíproco. Cruzamento recíproco é aquele em que o genitor é usado ora como fêmea, ora como macho; e se os resultados de um cruzamento e de seu recíproco forem idênticos, a herança do caráter em questão é controlada por genes nucleares. Caso contrário, o caráter é devido a efeitos citoplasmáticos, ou seja, os descendentes de cada cruzamento terão sempre o mesmo fenótipo do genitor feminino, o qual contribui com o citoplasma. Este tipo de herança pode ser explicado pelo efeito materno, ou herança extracromossômica (Ramalho et al., 1990).

O efeito materno é um caso especial de herança controlado por genes nucleares da mãe, porém é responsável por certas condições do citoplasma do óvulo, provavelmente produtos gênicos. A expressão fenotípica dos descendentes é independente dos genes doados do pai. É importante salientar que o efeito materno na expressão desses caracteres nos descendentes se dá apenas por uma ou, no máximo, duas gerações (Ramalho et al., 1990).

O efeito materno é utilizado como sendo a principal explicação de resultados de cruzamentos recíprocos para a herança do teor de proteínas no grão de soja, feijão, teor de óleo do grão de soja e metionina no feijão (Mesquita, 1989).

Num estudo dialélico envolvendo 8 populações segregantes e seus 56 cruzamentos recíprocos, conduzido em solos ácidos, para determinar a importância de fatores nucleares e citoplasmáticos em determinados caracteres agrônômicos em milho, Salazar et al. (1997) constataram a ausência de efeitos recíprocos para todas as características, indicando que a tolerância a condições de solos ácidos foi controlada por genes nucleares.

Com o intuito de avaliar a influência do efeito materno e o conteúdo inicial de água sobre a sensibilidade ao frio durante a germinação de sementes de milho, Cal & Obendorf (1972) observaram que a embebição de sementes de milho com teor de água de 6% resultou em aborto de radícula, proliferação de raízes seminais e injúria às plântulas, na germinação conduzida a 25°C. Para certas linhagens e híbridos, prolongada exposição a 5°C resultou em reduzida sobrevivência. Houve linhagens tolerantes ou não aos danos por embebição ao frio, e a sensibilidade dos híbridos recíprocos indicou efeito materno. A herança citoplasmática da mitocôndria pode explicar a relação entre o híbrido e o parental feminino em resposta ao frio, pois somente a linhagem materna pode fornecer mitocôndria e outras organelas num cruzamento. É óbvio que não se pode esperar o mesmo comportamento da linhagem com relação ao seu híbrido em função da heterose. Com isso, os autores concluíram que a influência materna e a umidade inicial das sementes podem controlar a sensibilidade ao frio durante a germinação, sendo assim uma alternativa para seleção de híbridos tolerantes às condições de baixa temperatura.

A susceptibilidade das sementes à injúria por secagem varia com o tipo de genótipo, existindo diferenças entre as linhagens quando utilizadas como parental feminino ou masculino. Navratil (1981) relatou que sementes híbridas de milho colhidas com teor de água superior a 40% foram mais ou menos tolerantes à temperatura de secagem de 50°C, dependendo do parental feminino utilizado, e que sementes de linhagens tolerantes à injúria por secagem devem dissipar água mais rapidamente do que as intolerantes, que, por sua vez, levaria a um resfriamento também mais rápido.

Seyedin et al. (1984), em estudo no qual foram avaliados efeitos da temperatura de secagem sobre a qualidade das sementes de milho, observaram que embriões de sementes da linhagem intolerante colhidas com teor de água de

47% e secadas a 50°C continham um pigmento carotenogênico não produzido pela linhagem tolerante.

Outro trabalho relacionando a temperatura de secagem e maturidade, sobre a qualidade de sementes de milho de diferentes genótipos, foi realizado por Burris & Navratil (1980). O teor de água das sementes na colheita variou de 45-50% a aproximadamente 20%. Nenhuma diferença foi observada nos valores de germinação das sementes da linhagem tolerante quando as mesmas foram secadas em temperaturas de 35, 40 e 45°C e colhidas com diferentes teores de água. Já no teste de frio, sementes da linhagem tolerante apresentaram reduzida emergência de plantas quando colhidas com 32% de teor de água e secadas a 50°C. Sementes secadas a 50°C sofreram mais com a injúria porembedição a frio e a diferença entre a germinação das sementes que foram embebidas a 10 e 25°C foi bastante pronunciada, não sendo evidente quando a temperatura de secagem foi de 40°C. Sementes da linhagem tolerante apresentaram maior taxa de secagem, seguidas das linhagens intermediária e intolerante. Os autores sugeriram que genótipos tolerantes podem ser capazes de dissipar umidade a uma maior taxa que os tipos intolerantes. Diante dos resultados, os autores concluíram que a injúria por secagem pode aumentar a susceptibilidade à injúria ao frio, porém a resistência de uma não pode ser relacionada com a resistência da outra; uma rápida taxa de secagem parece estar associada com tolerância aos danos da secagem, embora o trabalho tenha sido conduzido com um número de germoplasma limitado; e por último, existe uma substancial divergência genética para tolerância à secagem e uma significativa interação entre linhagem x teor de água de colheita x temperatura de secagem.

Num trabalho conduzido por Kollipara et al. (2002), objetivou-se identificar diferenças na expressão de genes relacionados a tolerância a dessecação (TD) e germinação conduzida a baixa temperatura (CG) de híbridos de milho e seus recíprocos. Cinco linhagens contrastantes para as características

de tolerância a baixa temperatura de germinação e tolerância a dessecação foram selecionadas para os cruzamentos. Houve diferenças de germinação entre os híbridos recíprocos, e os que eram combinados com parental feminino que apresentava sementes com elevada germinação tiveram a melhor performance. Dominância materna foi evidente para alguns cruzamentos nas duas características. Quando os híbridos F1 e recíprocos foram autofecundados, as diferenças fenotípicas entre eles reduziram, sugerindo que estas diferenças entre híbridos e recíprocos foram principalmente devido a genes nucleares e não aos fatores citoplasmáticos. Por meio dos perfis das proteínas dos recíprocos para a característica TD foi observada mudança na expressão de genes envolvidos na degradação protéica. Também foram demonstrados 30 polipeptídeos diferentes para a globulina no perfil protéico de híbridos F1 recíprocos divergentes para TD.

Em sementes de milho, diferenças na expressão fenotípica entre híbridos e recíprocos têm sido observadas não só para germinação a baixa temperatura e tolerância a injúrias por secagem, mas para várias características, como peso seco do embrião e endosperma, taxa de crescimento do grão, proteína e óleo no embrião e síntese de zeína (Bagnara e Daynard, 1983; Miller e Brimhall, 1951; Chaudhuri e Messing, 1994, citados por Kollipara et al., 2002).

A espessura e a permeabilidade do pericarpo, um tecido de origem materna relacionado com as diferenças existentes na absorção e perda de água pela sementes, têm sido associadas à velocidade de secagem de sementes de milho (Purdy & Crane, 1967).

Shull (1913) demonstrou que o pericarpo é semipermeável e varia com a variedade e com a posição no grão, sendo que a porção do pericarpo que cobre o embrião é menos permeável que a do endosperma (Orton, 1927). No entanto, não só o pericarpo regula a entrada de água no grão, mas também o tegumento,

sendo que a água penetra através do pericarpo mais rapidamente que no tegumento (Wolf et al., 1952).

Purdy & Crane (1967) constataram que as diferenças na taxa de secagem entre sementes híbridas de milho não foram relacionadas aos processos metabólicos dentro do grão, mas sim às características físicas do pericarpo. Foram observadas variações na espessura e estrutura do pericarpo da região dorsal a qual está localizada no lado oposto do embrião das sementes, demonstrando que materiais que apresentaram uma taxa de secagem lenta também possuem um pericarpo mais espesso e mais denso quando comparados com híbridos com taxa de secagem mais elevada. Maior permeabilidade do pericarpo foi associada com secagem mais rápida, sugerindo que diferenças na estrutura podem ser uma característica importante no processo de secagem. Porém, os autores salientaram que uma permeabilidade menor não significa necessariamente que a taxa de perda de água em grãos maduros seja menor, pois outros fatores, tais como pressão osmótica do endosperma, podem superar esta tendência.

Cardoso (2001), objetivando estimar a capacidade combinatória para a espessura do pericarpo, por meio da análise dialélica de populações de milho doce, verificou efeito significativo para CGC, CEC e efeito recíproco para esta característica. Na avaliação dos híbridos, foram detectadas alterações no desempenho, quando ocorreram mudanças na posição dos genitores maternos e paternos, evidenciando a importância do efeito recíproco para o caráter. As diferenças fenotípicas para a espessura do pericarpo foram significativas, e os híbridos com menor espessura do pericarpo eram provenientes de genitores femininos que apresentavam esse fenótipo.

O endosperma também tem sido envolvido na regulação da perda de água das sementes, conforme proposto por Nass & Crane (1970). A presença de determinados colóides como açúcares, proteínas e carboidratos no endosperma

influencia na regulação da taxa de secagem das sementes, mostrando que a variabilidade existente nas propriedades físicas e químicas das sementes parentais pode estar associada ao efeito materno.

Purdy & Crane (1967), estudando a herança da taxa de secagem em sementes de milho após a maturidade fisiológica, demonstraram a inexistência de diferenças entre as taxas de secagem das sementes provenientes de plantas autofecundadas e aquelas provenientes de um cruzamento dialélico, não incluindo os recíprocos. Eles sugeriram que a influência do pólen na constituição genética do endosperma não refletiu na taxa de secagem. Burris (1977) relatou que tanto o efeito do local de produção quanto o efeito materno afetaram significativamente o vigor de plântulas de milho híbrido, avaliados pelo teste de germinação e peso seco da parte aérea e raiz.

Para avaliar a variabilidade genética para a tolerância a injúria por secagem, Bdliya & Burris (1988) conduziram um estudo dialélico entre linhagens de milho, utilizando temperatura de secagem de 50°C. Efeitos aditivos e maternos foram mais importantes que os não aditivos e recíprocos na variabilidade entre as linhagens estudadas para tolerância à injúria por secagem. Segundo os autores, efeito materno nas sementes híbridas pode advir tanto do embrião quanto do endosperma, e a mitocôndria pode parcialmente responder pelas diferenças na germinação e desenvolvimento precoce das plântulas.

Em programas de desenvolvimento de híbridos, a avaliação da qualidade fisiológica das sementes das linhagens e dos seus respectivos híbridos deve ser levada em consideração como uma característica de seleção. Gomes (1999) constatou que sementes híbridas de milho apresentaram qualidade fisiológica superior quando comparadas à das linhagens, evidenciando a expressão da heterose na qualidade dessas sementes. Para o comprimento da parte aérea e radícula foram observadas as maiores estimativas da heterose.

Procurando explicar a origem da heterose na germinação e vigor das sementes, vários trabalhos foram realizados, incluindo os de Mino & Inoue (1980 e 1994), em que maior velocidade de germinação e crescimento vigoroso das plântulas estava associada com a maior atividade metabólica de RNA, proteínas e DNA nos embriões. Os autores verificaram, também, que no embrião híbrido o metabolismo de proteínas e lipídeos é superior aos das linhagens, favorecendo o crescimento do eixo embrionário e uma maior germinação das sementes (Causse et al., 1995)

Por meio de estudos bioquímicos tem sido observado que o controle da síntese de α -amilase, e subsequente hidrólise das reservas de sementes, apresenta uma ligação entre as giberelinas e a heterose em milho (Paleg, 1965). Rood & Larsen (1988), investigando o envolvimento da α -amilase na heterose em plântulas de milho, verificaram que após 48 horas de embebição da semente a atividade dessa enzima nas plântulas híbridas foi maior do que a de seus parentais, bem como a concentração do ácido giberélico (GA_3), resultando numa hidrólise mais rápida do amido. Segundo Rood et al. (1983 e 1990), linhagens de milho são menos vigorosas que seus híbridos descendentes em parte por causa da deficiência de giberelinas. Houve uma correlação positiva entre o teor de giberelinas encontrado nas plântulas e os aumentos da taxa de crescimento, área foliar e altura de plantas de milho. Os autores citam que uma das causas da depressão por endogamia é a deficiência de giberelinas.

Também foi observado que a correlação existente entre conteúdo de ácido giberélico, metabolismo de GA e velocidade de crescimento em linhagens endogamas versus híbridos sugere que o fenômeno da heterose para o rápido crescimento da planta de sorgo é parcialmente mediado por GA (Rood, 1995).

Estudos relacionados ao controle genético e variabilidade genética para a tolerância a danos por secagem são bastante escassos e praticamente inexistentes sob condições brasileiras. Assim, nessa pesquisa foi avaliada a

tolerância a altas temperaturas de secagem de sementes de milho resultantes de um cruzamento dialélico parcial entre linhagens com diferentes graus de sensibilidade à injúria por secagem. Para isso, foram avaliados aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à germinação, assim como aspectos anatômicos das sementes, os quais podem estar associados à tolerância a dessecação. Os resultados obtidos nessa pesquisa poderão ser utilizados nos programas de melhoramento de híbridos de milho, durante o processo de seleção de genótipos tolerantes à alta temperatura de secagem.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOLOWSKI, T. T. (Ed). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. p. 283-315.

ADAMS, C. A.; RINNE, R. M. Moisture content as a controlling factor in seed development and germination. **International Review Experimental Pathology**, San Diego, v. 68, p. 1-8, 1980.

ALLARD, R. W. The analysis of genetic-environmental interactions by means of diallel crosses. **Genetics**, Baltimore, v. 41, n. 3, p. 305-318, 1956.

ALLEN, P. S.; THORNE, E. T.; GARDNER, J. S.; WHITE, D. B. Is the barley endosperm a water reservoir for the embryo when germinating seeds are dried? **International Journal of Plant Science**, Chicago, v. 161, n. 2, p. 195-201, Mar. 2000.

AMARAL, D.; DALPASQUALE, V. A. Custos de secagem de sementes de milho (*Zea mays* L.) em espigas usando simulação matemática. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 55-66, Jan. 2000.

BAKER, J.; STEELE, C.; AND DURS, L. III. Sequence and characterization of 6 Lea proteins and their genes from cotton. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 11, n. 3, p. 277-291, 1988.

- BAKER, K. D.; PAULSEN, M. R.; VAN-ZWEDEN, J. Hibrid and drying rate effects on seed corn viability. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 34, n. 2, p. 499-506, Mar./Apr. 1991.
- BAKER, K. D.; PAULSEN, M. R.; VAN-ZWEDEN, J. Temperature effects on seed corn dryer performance. **Applied Engineering in Agriculture**, St. Joseph, v. 9, n. 1, p. 79-83, Jan. 1993.
- BDLIYA, P. M.; BURRIS, J. S. Diallel analysis of tolerance of drying injury in seed corn. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 6, p. 935-938, Nov./Dec. 1988.
- BEWLEY, J. D. Physiological aspects of desiccation tolerance. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 30, p. 185-238, 1979.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and Biochemistry of seeds**. New York: Spring Verlag, 1992. v. 1, 390 p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BLACKMAN, S. A.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Desiccation tolerance in developing soybean seeds: the role of stress proteins. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 4, p. 630-638, Apr. 1995.
- BLACKMAN, S. A.; WETTLAUER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 3, p. 868-874, July 1991.
- BORBA, C. S.; ANDREOLI, C.; ANDRADE, R. V. de; AZEVEDO, J. T. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples BR 201 fêmea de milho (*Zea mays* L.) produzidas no inverno. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 129-132, 1995.
- BRENAC, P.; HORBOWICZ, M.; DOWNER, S. M.; DICKERMAN, A. M.; SMITH, M. E.; OBENDORF, R. L. Raffinose accumulation related to desiccation tolerance during maize (*Zea mays* L.) seed development and maturation. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 150, n. 4, p. 481-488, Mar. 1997.
- BROOKER, D. B.; BAKKER-ARKEMA, F. W.; HALL, C. W. **Drying Cereal Grains**. Westport: Avi Publishing, 1974. 265 p.

BURKE, M. J. The glassy state and survival of anhydrous biological systems. In: LEOPOLD, A. C. **Membrane, metabolism and dry organisms**. Ithaca: Cornell University press, 1986. p. 358-363.

BURRIS, J. S. Effect of location of production and maternal parentage on seedling vigor in hybrid maize (*Zea mays* L.). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 5, n. 3, p. 703-708, 1977.

BURRIS, J. S.; MADDEN, R. F. Early germination physiology in maize embryos damaged by high temperature desiccation. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology, 4., 1992, Angers, France. **Proceedings....** Angers, France, 1993. v. 2, p. 491-496.

BURRIS, J. S.; NAVRATIL, R. J. Drying high-moisture seed corn. **Proceeding Annual Corn Sorghum Research Congress**, dordrecht, n. 35, p. 116-132, 1980.

BURRIS, J. S.; PETERSON, J. M.; PERDOMO. Morphological and physiological changes associated with desiccation in maize embryos. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology, 5., 1997 Reading. **Proceedings... Reading**: University of Reading, 1997. p. 103-111.

CAL, J. P.; OBENDORF, R. L. Imbibitional chilling injury in *Zea Mays* L. altered by initial kernel moisture and maternal parent. **Crop Science**, Madison, v. 12, n. 3, p. 369-373, May/June 1972.

CARDOSO, E. T. **Genética de caracteres agronômicos e de qualidade em milho doce**. 2001. 68 f. Tese (Doutorado em Plantas de Lavoura) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CARTER, M. W.; PONELEIT, C. G. Black layer maturity and filling period among inbred lines of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 4, p. 436-476, July/Aug. 1973.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.

CAUSSE, M.; ROCHER, J. P.; PELLESCI, S. Sucrose phosphate syntase: enzyme with heterotic activity correlated with maize growth. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 4, p. 995-1001, July/Aug. 1995.

- CHEN, Y.; BURRIS, J. S. Desiccation tolerance in maturing maize seed: membrane phospholipid composition and thermal properties. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 3, p. 766-770, May/June 1991.
- CHEN, Y.; BURRIS, J. S. Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 5, p. 971-975, Sept./Oct. 1990.
- CLOSE, T. J. Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 100, n. 2, p. 291-296, June 1997.
- DANIELL, J. W.; CHAPPELL, W. E.; COUCH, H. B. Effect of sublethal and lethal temperatures on plant cells. **Plant Physiology**, Rockville, v. 44, n. 10, p. 1684-1689, Oct. 1969.
- DARBYSHIRE, B. The function of the carbohydrate units of three fungal enzymes in their resistance to dehydration. **Plant Physiology**, Rockville, v. 54, n. 5, p. 717-721, Nov. 1974.
- DAYNARD, T. B.; DUNCAN, W. G. The black layer and grain maturity in corn. **Crop Science**, Madison, v. 9, n. 4, p. 473-476, July/Aug. 1969.
- DeMASON, D. A.; SEXTON, R.; GRANT REID, J. S. Structure, composition and physiological state of endosperm of *Phoenix dactylifera* L. **Annals of Botany**, London, v. 52, n. 1, p. 71-80, 1983.
- FONTES, R. de A. secagem e armazenamento. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 72, p. 66-69, dez. 1980.
- GALAU, G. A.; JAKOBSEN, K. S.; HUGHES, D. W. The controls of late dicot embryogenesis and early germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, n. 2, p. 280-288, Feb. 1991.
- GOLOVINA, E. A.; HOEKSTRA, F. A.; van AELST, A. C. Programmed cell death or desiccation tolerance: two possible routes for wheat endosperm cells. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 365-379, Sept. 2000.
- GOMES, M. de S. **Heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho**. 1999. 78 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**. Melbourne, v. 9, p. 462-493, 1956.

GROSZMANN, A.; SPRAGUE, G. F. Comparative growth rates in a reciprocal maize cross: 1. The kernel and its component parts. **Journal American Society Agronomy**, Madison, v. 40, n. 1, p. 88-98, Jan. 1948.

GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1999. 132 p. (Curso de Especialização Pós-Graduação "Lato Sensu" por tutoria à distância).

GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação no desenvolvimento de sementes**. Lavras: UFLA, 1998. 39 p. (Revisão – Exame de Qualificação).

GURLEY, W. B. HSPS: a key component for the acquisition of thermotolerance in plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 4, p. 4570-460, Apr. 2000

GUSTAFSON, R. J.; MOREY, R. V. Moisture and quality variations across the column a crossflow grain dryer. **Transaction of the ASAE**, St. Joseph, v. 24, n. 2, p. 1621-1625, Mar./Apr. 1981.

GUSTAFSON, R. J.; MOREY, R. V.; CHRISTENSEN, C. M.; MERONUCK, R. A. Quality changes during high-low temperature drying. **Transaction of the ASAE**, St. Joseph, v. 21, n. 1, p. 161-169, Jan./Feb. 1978.

HADDAD, E. S. Morphological development of sweet corn pericarp in two inbred lines and their F1 hybrid. **Indiana Agricultural Experimental Station Bulletin**, Indiana, n. 347, p. 1-24, 1931.

HALLAUER, S. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HERTER, U. **Effect of drying on corn seed quality**. 1987. 173 p. Thesis (Ph. D) - Iowa State University, Ames.

HERTER, U.; BURRIS, J. S. Changes in moisture, temperature, and quality of corn seed during high-temperature drying. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, n. 3, p. 749-761, July 1989a.

HERTER, U.; BURRIS, J. S. Effect of drying rate and temperature on drying injury of corn seed. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, n. 3, p. 763-774, July 1989b.

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

HERTER, U.; BURRIS, J. S. Preconditioning reduces the susceptibility to drying injury in corn seed. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, n. 3, p. 775-789, July 1989d.

HONG, S. W.; VIERLING, E. Mutants of *Arabidopsis thaliana* defective in the acquisition of tolerance to high temperature stress. **Proceedings of the National Academy of Science of the States of America**, Washington, v. 97, n. 8, p. 4392-4397, Apr. 2000.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Development of desiccation tolerance in Norway maple (*Acer platanoides* L.) seeds during maturation drying. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 2, n. 2, p. 169-172, June 1992.

HUNTER R. J. L.; TEKRONY, D. M.; MILES, D. F.; EGLI, D. B. Corn seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilate. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 5, p. 1309-1313, Sept./Oct. 1991.

JINKS, J. L. A survey of the genetical basis of heterosis in a variety of diallel crosses. **Heredity**, Oxford, v. 9, p. 223-38, 1955.

KEMPTHORNE, O. The theory of the diallel cross. **Genetics**, Baltimore, v. 41, n. 4, p. 451-453, 1956.

KERMODE, A. R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 75-95, June 1997.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D. Development seeds of *Ricinus communis* L. when detached and maintained in a atmosphere of high relative humidity, switch to a germinative mode without the requirement for complete desiccation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, n. 3, p. 702-707, Sept. 1989.

KERMODE, A R.; OISHI, M. Y.; BEWLEY, J. D. Regulatory roles for desiccation and abscisic acid in seed development: a comparison of the evidence from whole seeds and isolated embryos. In: STANWOOD, P. C.; MCDONALD, M. B. (Ed.) **Seed Moisture**. Madison: Crop Science of America, 1989. p. 23-50. (CSSA Special Publication ; n. 14).

KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.

KNITTLE, K. H.; BURRIS, J. S. Effect of kernel maturation on subsequent seedling vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 16, n. 6, p. 851-854, Nov./Dec. 1976.

KOLLIPARA, K. P.; SAAB, I. N.; WYCH, R. D.; LAUER, M. J.; SINGLETARY, G. W. Expression profiling of reciprocal maize hybrids divergent for cold germination and desiccation tolerance. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 3, p. 974-992, July 2002.

KUO, T. M.; VANMIDDLESWORTH, J. F.; WOLF, W. F. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, n. 1, p. 32-36, Jan. 1998.

LEPRINCE, O.; HENDRY G. A F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 3, 231-246, Sept. 1993.

LEPRINCE, O.; VAN DER WERF, A.; DELTOUR, R.; LAMBERS, H. . Respiration pathways in germinating maize radicles correlated with desiccation tolerance and soluble sugars. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 84, n. 4, p. 581-588, Apr. 1992.

LOPES, A. C. A. **Análise dialélica envolvendo genótipos parentais de soja resistentes ao nematóide de cisto**. 2001. 122 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

MADDEN, R. F.; BURRIS, J. S. Respiration and mitochondrial characteristics of imbibing maize embryos damaged by high temperatures during desiccation. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 6, p. 1661-1667, Nov./Dec. 1995.

MCCARTY, D. R.; CARSON, C. B. The molecular genetics of seed maturation in maize. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, n. 2, p. 267-272, Feb. 1991.

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

MELO, P. C. T. **Heterose e capacidade combinatória em um cruzamento dialélico parcial entre seis cultivares de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill)**. 1987. 110 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

MESQUITA, I. **A Efeito materno na determinação do tamanho da semente do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1989. 70 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

MINO, M. Hybrid vigor in some characters of maize seedlings. **Japanese Journal Breeding**, Tokyo, v. 30, n. 1, p. 131-138, 1980.

MINO, M.; INOUE, M. Analysis of glucose metabolism in the heterotic viability in seedling growth of maize F1 hybrid. **Japan Journal Crop Science**, Shinshu, v. 63, n. 4, p. 682-688, 1994.

MINO, M.; INOUE, M. RNA and protein synthesis during germination process of F1 hybrid and its parental inbred lines of maize. **Plant Science Letters**, Clare, v. 20, n. 1, p. 7-13, 1980.

MOORE, R. P. Effects of mechanical injuries on viability. In: ROBERTS, E. H. **Viability of seeds**. London: Chapman and Hall, 1974. p. 94-113.

NASS, H. G.; CRANE, P. L. Effect on endosperm mutants on drying rate in corn. (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 10, n. 2, p. 141-144, Mar./Apr. 1970.

NAVRATIL, R. J. **The effect of drying temperature on corn seed quality**. 1981. Dissertation (PhD) - Iowa State University, Ames.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. The effect of drying temperature on corn seed quality. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, n. 3, p. 487-496, June 1984.

OLSEN, O. A.; POTTER, R. H.; KALLA, R. Histodifferentiation and molecular biology of developing cereal endosperm. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 2, n. 2, p. 117-131, June 1992.

ORTON, C. R. The permeability of the seed coat of corn to mercury compounds. (Abstract). **Phytopathology**, St. Paul, v. 17, n. 1, p. 51, Jan. 1927.

PALEG, L. G. Physiological effects of giberellins. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 16, p. 291-322, 1965.

PAMMENTER, N. M.; BERJAK, P. Uma revisão da fisiologia de sementes recalcitrantes em relação aos mecanismos de tolerância à dessecação. **Seed Science research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Mar. 1999.

PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W.; BERJAK, P. Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landolphia Kirkii*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 4, p. 1093-1098, Aug. 1991.

PEPLINSKI, A. J. et al. Drying of high moisture corn: changes in properties and physical quality. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 71, n. 2, p. 129-133, Mar./Apr. 1994.

PERDOMO, A.; BURRIS, J. Histochemical, physiological, and ultrastructural changes in the maize embryo during artificial drying. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1236-1244, Sept./Oct. 1998.

PURDY, J. L.; CRANE, P. L. Inheritance of drying rate in mature corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 4, p. 294-297, July/Aug. 1967.

QUEITSCH, C.; WHAN HONG, S.; VIERLING, E.; LINDQUIST, S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 4, p. 479-492, Apr. 2000

RAGHAVAN, V. Embryogenesis in angiosperms. **A developmental and experimental study**. Cambridge: Cambridge University Press, 1986.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na agropecuária**. São Paulo: Globo ; Lavras: FAEPE, 1990. 359 p.

RENCH, W. F.; SHAW, R. H. Black layer development in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 63, n. 2, p. 303-305, Mar./Apr. 1971.

ROBERTON, M.; CHANDLER, P. M. Pea dehydrins: identification, characterisation and expression. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 19, n. 6, p. 1031-1044, Sept. 1992.

ROBERTS, E. H. Physiology of ageing and its application to drying and storage. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 9, n. 2, p. 359-372, 1981.

ROBERTS, E. H. Storage environment and the control of viability. In: ROBERTS, E. H. (Ed.). **Viability of seeds**. Syracuse: Syracuse University Press, 1972. Cap. 2, p. 14-58.

ROOD, S. B. Heterosis and the metabolism of gibberellin A-20 in sorghum. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 16, n. 3, p. 271-278, May 1995.

ROOD, S. B.; BLAKE, T. J.; PHARIS, R. P. Gibberellins and heterosis in maize. II. Response to gibberellic acid and metabolism of [³H]GA₂₀. **Plant Physiology**, Maryland, v. 71, n. 3, p. 645-651, Mar. 1983.

ROOD, S. B.; BUZZEL, R. I.; MAJOR, D. J. et al. Gibberellins and heterosis in maize: quantitative relationships. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 2, p. 281-286, Mar./Apr. 1990.

ROOD, S. B.; LARSEN, K. M. Gibberellins, amylase and the onset of heterosis in maize seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 39, n. 199, p. 223-233, 1988.

ROSA, S. D. V. F. da. **Indução de tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento a baixa temperatura**. 2000. 121 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROSA, S. D. V. F. da; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; VEIGA, R. D. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 54-63, 2000.

SALAZAR, F. S. et al. Diallele analysis of acid soil tolerant and intolerant tropical maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 5, p. 1457-1462, Sept./Oct. 1997.

SCARANARI, C. **Retardamento da secagem de espigas e qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1997. 60 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEYEDIN, N.; BURRIS, J. S.; FLYNN, T. E. Physiological studies on the effects of drying temperatures on corn seed quality. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, n. 3, p. 497-504, June 1984.

SHULL, C. A.; Semi-permeability of seed coats. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 56, p. 169-199, 1913.

SOAVE, J.; MORAES, S. A. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 192-259.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 3, p. 923-932, Mar. 1942.

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 857-862, May/June 1995.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Secagem das sementes**: manual das sementes, tecnologia da produção. Piracicaba: ESALQ, 1977. p. 123-143.

VEIT, B.; SCHMIDT, R. J.; HAKE, S.; YANOFSKY, M. F. Maize floral development: new genes and old mutants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1205-1215, Oct. 1993.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VIANA, J. M. S. **Teoria e análises de cruzamentos dialélicos parciais, com aplicação no melhoramento genético do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1995. 100 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

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

VON PINHO, E. V. de R. **Tecnologia e Produção de Sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. 75 p. (Curso de Especialização Pós-Graduação ‘Lato Senso’ por tutoria à distância).

WALTERS, C.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; CRANE, J. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 2, p. 135-148, June 2001.

WETZEL, M. M. V. S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 260-275.

WILLIAMSON, J. D.; QUATRANO, R. S. ABA- regulation os two classes of embryo specific sequences in mature wheat embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n. 1, p. 208-215, Jan. 1988.

WOLF, M. J.; BUZAN, C. L.; MAcMASTERS, M. M. RIST, C. E. Struture of the mature corn kernel. I & II. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 29, n. 5, p. 321-348, Sept. Oct. 1952.

WRICKE, G.; WEBER, W. E. **Quantitative genetics and selection in plant breeding**. Berlin: Walter de Gruyter, 1986. 406 p.

CAPÍTULO 2

1 RESUMO

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Tolerância de sementes de linhagens de milho a alta temperatura de secagem.** 2003. Cap. 2. Tese (Tese-Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

Cultivares tolerantes a alta temperatura de secagem proporcionariam redução no tempo de secagem, uma etapa crítica no sistema de produção de sementes. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a tolerância à alta temperatura de secagem de sementes de linhagens de milho por meio de testes de germinação e vigor. As sementes foram colhidas manualmente em espigas com teor de água em torno de 35% e secadas artificialmente a 45°C até atingirem 11% de teor de água. Em seguida foram submetidas aos testes de primeira contagem e contagem final de germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio sem solo e de condutividade elétrica. Houve diferenças significativas nos valores de germinação e vigor de sementes das diferentes linhagens, sendo então classificadas em tolerantes e intolerantes. Os resultados permitiram concluir que a sensibilidade das sementes à injúria por secagem a alta temperatura é dependente da linhagem.

* Comitê Orientador: Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ROVERI-JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Tolerance of corn lines seeds for high drying temperature**. 2003. Cap. 2. Thesis (Doctorate in Plant Science) – Federal University of Lavras, Lavras.

High drying temperature tolerant cultivars provide a reduction in the drying period, a critical phase of the corn seeds production system. The objective of this research was to evaluate the tolerance of corn lines seeds to high drying temperature by the germination and vigor tests. Seeds were manually harvested in kernels with water content approximately 35% and dried artificially at 45°C up to 11% water content. Then the seeds were submitted to the first and final germination counting tests, accelerated aging, cold test without soil and electrical conductivity. There were significant differences in the germination and vigor values of seeds from different lines, being classified into tolerant and intolerant. The results permitted to conclude that sensitivity of seeds to high drying temperature injury depends on the lines.

* Guidance Committee: Dr. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Major Professor), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A produção de sementes é uma atividade especializada e cuidados devem ser tomados em todas as fases de produção para assegurar a obtenção de lotes de sementes com alta qualidade. O momento mais adequado para a colheita das sementes é o mais próximo possível do ponto de maturidade fisiológica. No caso do milho, a maturidade das sementes pode ocorrer quando o conteúdo de água se encontra em torno de 28 a 42%, dependendo do genótipo em questão (Carter & Poneleit, 1973). Objetivando a produção de sementes com qualidades superiores e a otimização da utilização das estruturas de secagem e de beneficiamento, tem sido dada preferência à colheita em espigas

O aumento da eficiência na colheita requer uma secagem mais rápida, com a adoção de temperaturas de secagem e vazões de ar mais elevadas. Entretanto, temperaturas altas reduzem a germinação e o vigor das sementes, podendo alterar suas características químicas e físicas (Toledo & Marcos Filho, 1977), sendo que a suscetibilidade da semente aos danos por secagem é função das condições de secagem, da qualidade e do conteúdo de água iniciais da semente, aliados aos aspectos genéticos. Numa revisão conduzida por Baker et al. (1991), citados por Baker et al. (1993), a maioria das sementes de milho com teor de água acima de 25% é secada numa temperatura de 35°C, e abaixo deste, a 40-43°C. Segundo Amaral & Dalpasquale (2000), para a secagem de milho em espigas, a temperatura do ar de secagem varia entre 40 e 50°C, não devendo ultrapassar esse limite para não comprometer a qualidade fisiológica das sementes.

Cultivares tolerantes a altas temperaturas de secagem podem proporcionar redução no tempo de secagem, uma etapa crítica no sistema de produção de sementes de milho. Estudos da variabilidade genética para a tolerância a danos por secagem são bastante escassos e praticamente inexistentes

em condições brasileiras. Assim, a proposta deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética para a tolerância à secagem a alta temperatura entre sementes de linhagens de milho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Essa pesquisa foi conduzida na área experimental e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), cujas coordenadas são latitude 21°14'S, longitude 40°17'W e altitude de 918,80m. O clima se enquadra no tipo Cwb da classificação de Köppen. A temperatura média anual é de 19,4°C e a pluviosidade se distribui principalmente de outubro a abril, com valores anuais de 1529,7 mm.

Inicialmente foi instalado, em novembro de 1999, um campo para multiplicação de 31 linhagens cedidas pela empresa GeneSeeds – Recursos Genéticos em Milho Ltda (Tabela 1). A semeadura foi conduzida de modo a garantir seis plantas por metro linear, e o espaçamento utilizado foi de 0,8m. Na adubação de semeadura foram aplicados 400 kg ha⁻¹ de 8-28-16 e na primeira e segunda coberturas, 400 kg ha⁻¹ de 20-0-20 e de sulfato de amônio, respectivamente. Os demais tratamentos culturais foram realizados conforme as recomendações para a cultura. Na época de florescimento, as espigas foram protegidas com sacos plásticos, antes da emissão dos estilo-estigmas, para evitar cruzamentos indesejáveis, e posteriormente foram realizadas as autofecundações. As condições climáticas durante o desenvolvimento da cultura se encontram na Tabela 1B.

Durante o desenvolvimento das sementes foi feito um acompanhamento da solidificação do endosperma por meio da linha de leite e as espigas foram amostradas para determinação do teor de água, utilizando-se o método da estufa a 130°C, por 4 horas, conforme prescrições das Regras para Análise de

Sementes (Brasil, 1992), até que o teor de água atingisse aproximadamente 35%, momento em que foi realizada a colheita.

As espigas de cada linhagem foram colhidas e despalhadas manualmente e em seguida submetidas à secagem artificial a 45°C até as sementes atingirem o conteúdo de água de aproximadamente 11%. Foram utilizados secadores experimentais de pequena escala, construídos de acordo com Navratil & Burris (1982). O secador constava de uma câmara de secagem (61 x 61 x 61cm) e gavetas empilháveis (61 x 61 x 15,2cm) subdivididas em quatro sessões, nas quais as espigas foram aleatoriamente distribuídas. O sistema de aquecimento foi realizado por meio de um conjunto de resistências (5000Watts), e a temperatura no leito de secagem foi verificada com o auxílio de um termo-cabo contendo um sensor. Do lado externo da base de cada secador foi montado um ventilador centrífugo, ligado a um motor de 0,25 Kw, 115 V, capaz de elevar 196 litros/segundo a 7,6 cm de pressão estática. O fluxo médio de ar, de $23,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$, foi ajustado por meio de uma portinhola deslizável, fixada na entrada do ventilador. Os valores diários de umidade relativa e temperatura do ar ambiente, correspondentes ao período de secagem das sementes, se encontram na Tabela 2B. Sementes colhidas em espigas com o mesmo conteúdo de água também foram secadas à sombra.

As espigas foram debulhadas manualmente e as sementes retidas na peneira 16 de crivo circular foram tratadas com os fungicidas Tecto 600[®] e Captan[®] nas doses de 40g e 120g por 100Kg de sementes, respectivamente, do produto comercial. As linhagens foram classificadas em tolerantes e intolerantes a alta temperatura de secagem, com base nos resultados obtidos nos testes de condutividade elétrica, contagem final e primeira contagem do teste de germinação, envelhecimento acelerado e teste frio.

As espigas restantes de cada linhagem permaneceram no campo até aproximadamente 18% de teor de água, quando foram colhidas manualmente e

TABELA 1 – Descrição das linhagens de milho utilizadas na pesquisa. UFLA, Lavras - MG, 2003.

Linhagens	Ciclo	Grão	Porte
42	P	MD/AM	M
86	N	D/AM	A
91	N	D/A	A
65	SP	F/V	B
40	SP	F/V	B
30	SP	F/V	B
76	P	F/V	M
63	SP	F/V	B
33	P	F/V	M
6	SP	D/AM	B
93	N	D/AL	A
54	SP	F/AL	B
81	N	MD/AL	A
29	P	D/AM	M
25	P	F/AM	B
83	N	F/AL	A
19	P	D/AL	M
48	N	D/AM	M
78	N	D/AL	A
36	SP	F/V	B
66	P	F/V	B
95	N	MD/AM	A
79	N	D/AM	A
64	SP	F/AM	B
50	SP	F/V	B
31	P	F/V	M
57	P	D/AM	M
41	P	MD/AM	M
74	SP	F/V	B
43	P	MD/AM	M
84	P	MD/AM	M

Ciclo: P - precoce; SP - super precoce; N - normal;

Grão: MD – meio dente; D - dente; F - flint

AM - amarelo; A - alaranjado; V - vermelho

Porte: A - alto; B - baixo; M - médio

secadas à sombra até o conteúdo de água em torno de 12%. Em seguida foram expurgadas e tratadas, permanecendo em câmara fria e seca regulada a $\pm 15^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa em torno de 50% até a próxima semeadura.

4.1 Avaliações fisiológicas

4.1.1 Teste de germinação

Foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes, que foram semeadas entre papel toalha tipo Germitest umedecido com água destilada na proporção de $2,5 \text{ mL.g}^{-1}$ de papel. As sementes permaneceram no germinador regulado para 25°C e as avaliações das plântulas normais foram efetuadas aos 7 dias após a instalação do teste, segundo recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais das quatro repetições.

4.1.2 Primeira contagem de germinação

As plântulas normais que apresentavam pelo menos duas raízes seminais, raiz principal e parte aérea com 1,5 cm de comprimento foram computadas aos quatro dias da semeadura do teste de germinação e os resultados expressos, em porcentagem.

4.1.3 Teste de frio sem solo

Cinquenta sementes por repetição foram distribuídas em papel toalha umedecido com água destilada numa proporção de três vezes o seu peso seco, perfazendo um total de duzentas sementes por tratamento. Os rolos foram

confeccionados como no teste de germinação e após semeadura foram colocados no interior de sacos plásticos e mantidos em câmara regulada a 10°C durante 7 dias. Decorrido este prazo, os rolos foram transferidos para o germinador regulado para 25°C e as plântulas normais, apresentando pelo menos 2 cm de parte aérea, duas raízes seminais e a raiz principal, foram avaliadas aos 4 e 7 dias (Dias & Barros, 1995).

4.1.4 Teste de condutividade elétrica

Quatro repetições de 25 sementes aparentemente intactas foram selecionadas e pesadas (0,01g) para cada tratamento. Em seguida foram imersas em 75 mL de água destilada por 24 horas, à temperatura de 25°C. Por meio de um condutivímetro de massa da marca DIGIMED, modelo CD 21A, foi efetuada a leitura da condutividade da solução de embebição das sementes de cada linhagem; os resultados foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes (Marcos Filho et al., 1987).

4.1.5 Envelhecimento acelerado

O método utilizado foi o de mini câmaras do tipo “gerbox” onde as sementes foram distribuídas sobre uma tela suspensa no interior da caixa contendo 40 mL de água. As sementes permaneceram incubadas durante 96 horas, numa temperatura de 41°C, e em seguida foi efetuado o teste de germinação (Vieira & Carvalho, 1994). As plântulas normais apresentando pelo menos 2 cm de parte aérea, duas raízes seminais e raiz principal foram avaliadas aos 5 e 9 dias.

4.2 Procedimento estatístico

Os testes realizados para avaliação da qualidade fisiológica das sementes seguiram o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram interpretados estatisticamente por meio da análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott Knott ao nível de 5%. As análises foram realizadas no programa estatístico Sisvar (Sistema de Análise de Variância) (Ferreira, 2000) e as variáveis, expressas em porcentagem, tiveram os dados transformados em arco-seno $\sqrt{X/100}$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de linhagens de milho submetidas à alta temperatura de secagem está registrado na Tabela 1A. Houve diferenças significativas nos valores de germinação e vigor das sementes das linhagens de milho submetidas a secagem artificial a 45°C.

Embora Amaral & Dalpasquale (2000) tenham citado temperaturas de até 50°C na secagem de milho em espigas, a temperatura de 45°C utilizada neste experimento discriminou bem os materiais, uma vez que se tratava de linhagens que geralmente apresentam menor tolerância a altas temperaturas de secagem.

Maiores valores de germinação foram observados para as sementes das linhagens 42, 86, 91, 65 e 40 e menores, para as das linhagens 57, 41, 74, 43 e 84. Nessas últimas houve uma redução drástica na porcentagem de plântulas normais (Tabela 2). Sementes das demais linhagens apresentaram um comportamento intermediário. Burris & Navrail (1980) observaram uma substancial divergência genética para tolerância a secagem, a exemplo do ocorrido nessa pesquisa.

Esses resultados suportam as afirmações feitas por Baker et al. (1991), os quais mencionaram que a redução da germinação não é função do efeito acumulativo da exposição das sementes às condições de alto teor de água e elevada temperatura de secagem, mas devida aos danos causados às membranas celulares ou à desorganização dos componentes celulares, os quais são dependentes do genótipo.

A germinação das sementes foi afetada pelo processo de secagem, uma vez que as sementes de algumas linhagens, colhidas com o mesmo teor de água e secadas à sombra, apresentaram valores mais elevados de germinação (Tabela 3), possibilitando a pressuposição de que as sementes no momento da colheita estavam fisiologicamente maduras. Belilaqua et al. (1997), comparando o efeito do método de secagem de sementes de cenoura, constataram um aumento no metabolismo das sementes secadas naturalmente em relação à secagem com ar aquecido a 32°C.

A germinação das sementes da linhagem 30 secadas à sombra foi menor que a das secadas artificialmente em decorrência, provavelmente, de essa linhagem ter sido bastante susceptível às condições adversas de campo, apresentando espigas bastante atacadas por fungos (Tabela 3).

No teste de envelhecimento acelerado, menores valores foram observados nas sementes das linhagens 57, 50, 41, 78, 43 e 84, não ocorrendo o mesmo com as sementes das linhagens 91, 65, 40, 86, 30 e 42, que mantiveram sua capacidade de produzir plântulas normais mesmo após secagem a alta temperatura (Tabela 2). Além da perda de integridade do sistema de membranas celulares, provocando alterações degenerativas no metabolismo da semente, o teste de envelhecimento acelerado pode ter provocado a morte de tecidos importantes, em diferentes regiões das sementes, como mencionado por Matthews (1985), citado por Marcos-Filho (1994), podendo explicar a alta porcentagem de sementes mortas das linhagens que apresentaram baixa

germinação após envelhecimento acelerado (dados não mostrados). Braccini et al. (2001) mencionaram que além dos danos às membranas celulares, deve-se considerar o acúmulo de substâncias tóxicas, principalmente açúcares redutores, como um dos principais mecanismos de deterioração em sementes de milho, pelo fato de serem os carboidratos as principais substâncias de reserva. Ramos & Carneiro (1991) verificaram aumento da atividade da enzima amilase com o aumento do período de envelhecimento, bem como decréscimo nos valores de amido e aumento na quantidade de açúcares, o que acarretou diminuição nas porcentagens e índices de velocidade de emergência em sementes de pinheiro do Paraná. Em outras pesquisas tem sido observado que altas temperaturas de secagem podem diminuir a solubilidade e a capacidade de ligação das proteínas (Wall et al., 1975, citados por Peplinski et al., 1994), comprometendo a germinação e desenvolvimento da plântula.

Com relação aos resultados do teste de frio (Tabela 2), houve uma mesma tendência de classificação das linhagens quanto à tolerância a alta temperatura de secagem observada no teste de envelhecimento acelerado e germinação. Maior dano por alta temperatura de secagem foi observado nas sementes submetidas ao teste de frio, quando comparado ao teste de germinação. Esses resultados foram observados também por Herter & Burris (1989) e Navratil & Burris (1984). O baixo teor de água das sementes, associado com “chilling” durante embebição, pode resultar num maior dano à estrutura da membrana e subsequente germinação (Cal & Obendorf, 1972). A temperatura de secagem pode ter alterado o mecanismo básico da configuração das membranas, resultando em severas reduções na germinação das linhagens intolerantes no teste de frio. O efeito da temperatura de secagem foi também detectado no teste frio, em pesquisa desenvolvida por Madden & Burris (1995). Os autores observaram que sementes de milho híbrido tiveram sua viabilidade reduzida

TABELA 2 - Valores médios da primeira contagem (1^aC) e contagem final do teste de germinação (TG), teste frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE) de sementes de linhagens de milho secadas artificialmente. UFLA, Lavras - MG, 2003.

L	TG (%)	L	1^aC (%)	L	TF (%)	L	EA (%)	L	CE (μ S/cm/g)
42	100 a	91	92 a	91	99 a	91	99 a	83	14.52 a
86	99 a	40	91 a	86	98 a	65	98 a	33	15.18 a
91	99 a	76	84 b	40	97 a	40	95 b	65	15.69 a
65	99 a	30	79 b	65	97 a	86	95 b	48	16.89 b
40	99 a	65	76 b	42	91 b	30	91 c	91	17.20 b
30	95 b	6	76 b	76	87 b	42	86 c	40	18.16 b
76	93 b	86	65 c	33	86 b	76	77 d	42	19.03 b
63	90 b	54	65 c	30	84 b	19	64 e	19	19.06 b
33	89 b	93	62 c	6	83 b	25	64 e	86	20.19 c
6	86 c	19	59 c	79	73 c	48	52 f	57	20.64 c
93	86 c	31	57 c	19	70 c	33	51 f	6	20.92 c
54	86 c	48	54 d	93	70 c	81	50 f	93	21.22 c
81	84 c	25	50 d	54	70 c	83	50 f	64	21.38 c
29	82 d	64	49 d	29	67 c	6	49 f	81	21.39 c
25	80 d	33	48 d	81	64 c	36	47 f	25	23.05 d
83	79 d	74	47 d	95	64 c	66	45 f	79	23.84 d
19	78 d	79	44 d	25	63 c	93	45 f	78	24.06 d
48	76 e	63	44 d	48	61 c	95	44 f	95	24.03 d
78	73 e	42	43 d	83	57 d	31	43 f	29	24.78 d
36	72 e	83	41 d	64	54 d	54	42 f	50	25.55 d
66	71 e	36	40 e	63	54 d	63	41 f	63	25.62 d
95	71 e	78	37 e	57	53 d	79	37 g	54	26.55 d
79	71 e	95	36 e	31	52 d	64	36 g	31	28.08 e
64	67 f	43	36 e	66	51 d	74	33 g	43	29.45 e
50	66 f	81	34 e	36	48 d	29	30 g	76	30.68 e
31	64 f	29	33 e	78	45 d	57	26 h	30	31.08 e
57	59 g	50	32 e	50	43 d	50	22 h	74	33.62 f
41	57 g	57	27 e	43	37 e	41	19 h	36	33.91 f
74	56 g	66	26 e	41	34 e	78	13 i	41	34.86 f
43	55 g	41	15 f	74	25 f	43	1 j	66	37.46 g
84	11 h	84	1 g	84	9 g	84	0 j	84	51.80 h

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5%.

após secagem conduzida à temperatura de 45°C. Burris & Navratil (1980), também trabalhando com sementes de milho, concluíram que a injúria por secagem pode aumentar a susceptibilidade à injúria ao frio, porém a resistência de uma não pode ser relacionada com a resistência da outra.

O teste de primeira contagem de germinação avalia a velocidade de germinação, ou seja, o vigor inicial das sementes. Com exceção das linhagens 42 e 74, as demais mantiveram-se tolerantes ou susceptíveis aos danos por secagem, como detectado nos demais testes para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

Antes de prejudicar a porcentagem ou o desenvolvimento das plântulas normais, a secagem excessiva reduz a velocidade de germinação e, em casos mais severos, eleva a frequência de anormalidades nas plântulas (Roberts, 1981). Essas diferenças de comportamento entre as linhagens quanto à velocidade de germinação pode ser atribuída à presença de um sistema funcional enzimático mitocondrial nas sementes secas, o que, para Nakayama et al. (1990), citados por Burris & Madden (1993), é importante para a absorção inicial de oxigênio pelos tecidos hidratados. Madden & Burris (1995) observaram que a taxa de absorção de oxigênio após uma hora de embebição das sementes de milho secadas a 45°C foi menor que na de 35°C e permaneceu constante nas primeiras horas, refletindo a incapacidade desses eixos embrionários em desenvolver uma atividade respiratória durante os estágios iniciais de germinação.

Não houve relação direta entre a perda de lixiviados, avaliada pelo teste de condutividade elétrica, e o grau de sensibilidade à alta temperatura de secagem para as linhagens 30 e 57 (Tabela 2), as quais apresentaram-se como tolerantes e susceptíveis, respectivamente, quando comparadas com os resultados observados nos demais testes utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes. Torna-se difícil estabelecer limites de valores de condutividade que estariam refletindo na qualidade fisiológica das sementes,

medida por meio de outros testes. Rosa (2000) observou valores de 25,23 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ em sementes de linhagem de milho colhidas com teores de água de 37,2% e secadas artificialmente a 50°C. Essas sementes apresentaram valores de primeira contagem e contagem final de 57% e 87%, respectivamente, e 30% no teste frio. No entanto, na presente pesquisa, o aumento de lixiviados observados nas sementes da linhagem 30 não foi suficiente para reduzir a porcentagem de plântulas normais nos testes de vigor e germinação.

O teste de condutividade elétrica tem sido proposto para a avaliação do vigor das sementes, sendo relacionado com a integridade das membranas celulares. As membranas celulares são citadas como um dos principais locais de injúrias após secagem, sendo um indicador precoce de dano induzido por dessecação, através de lixiviação de várias soluções citoplasmáticas, como mencionado por Crowe et al. (1989). Pode ocorrer que determinadas linhagens apresentem uma maior eficiência na reorganização do sistema de membranas, não significando propriamente em danos. De acordo com Herter & Burris (1989), a injúria às membranas pela secagem, avaliada pelo teste de condutividade elétrica, teve maior importância ou não, dependendo da linhagem, como observado nesse trabalho, e outros tipos de danos podem afetar a viabilidade, sem aumentar os valores de condutividade elétrica.

As linhagens intolerantes aqui mencionadas devem apresentar um conteúdo de umidade crítico abaixo do qual a taxa de lixiviação aumenta abruptamente, como discutido por Leprince et al (1995), que também comentaram que a perda de eletrólitos em sementes de milho e feijão tolerantes não foi afetada pela temperatura durante o processo de secagem. Fessel et al. (2001) observaram que os valores de condutividade elétrica das sementes de linhagem de milho colhidas com teores de água entre 52 e 21,5% decresceram com o desenvolvimento da semente, indicando a existência de diferenças na permeabilidade das membranas celulares durante o processo de maturação.

Mudanças morfológicas associadas com a secagem foram verificadas por Burris et al. (1997), os quais citaram a importância dos corpos lipídicos alinhados adjacentes à parede celular da radícula de eixos embrionários de sementes de milho no controle de lixiviados pela membrana. Outro fator que pode influenciar os resultados de condutividade elétrica é o processo de embebição das sementes que ocorre nas primeiras horas da instalação do teste, apresentando elevados valores quando o dano de secagem for maior. Isso foi constatado por Rosa et al. (2000), que observaram uma alta correlação dos valores de condutividade com os outros parâmetros de qualidade quando sementes de milho foram embebidas previamente à instalação do teste.

TABELA 3 - Valores médios do teste de germinação (TG) de linhagens de milho, safra 1999/00, colhidas com 35% de umidade e secadas à sombra. UFLA, Lavras - MG, 2003.

Linhagens	Germinação (%)
30	76
42	96
40	98
86	99
65	99
91	100
50	92
57	98
43	97
41	99
74	100
84	97
54	100
83	91
19	92
81	100
25	91
48	99

Fessel et al (2001) não observaram variação significativa na germinação de sementes de linhagem de milho colhidas com teores de água entre 52,17 e 21,59%, quando foram secadas em espigas à temperatura de 30°C até teor de água final de 8-10%. No entanto, para os testes de vigor, os melhores indicativos da qualidade fisiológica ocorreram quando as sementes foram colhidas a partir de 31,546% de teor de água, para o teste de envelhecimento acelerado, e 35,67% para os testes de frio e condutividade elétrica.

As grandes variações de vigor e germinação das sementes que foram submetidas às mesmas condições de secagem reforçam a idéia de que a sensibilidade das sementes ao processo de secagem, bem como ao processo de deterioração, varia com a linhagem estudada.

Por meio de pesquisas tem-se observado a existência de diferenças na susceptibilidade das sementes à injúria por secagem entre as linhagens quando utilizadas como parental feminino ou masculino. Não somente a temperatura do ar de secagem afeta a qualidade fisiológica das sementes, como também a taxa de secagem, a qual, segundo Baker et al. (1993), varia com o híbrido utilizado. Segundo esses autores, além do tamanho e da forma das espigas, o tipo de pericarpo das sementes pode ter influenciado no tempo de secagem dos materiais estudados. De acordo com Burriss & Navratil (1980), sementes de milho tolerantes a dessecação apresentaram maior taxa de secagem que as sementes da linhagem intermediária e intolerante.

Com base nos resultados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica das 31 linhagens após secagem artificial, as linhagens 30, 42, 40, 86, 65 e 91 foram classificadas como tolerantes e as sementes das linhagens 50, 57, 43, 41, 74 e 84, como intolerantes. As linhagens tolerantes foram designadas de 1, 2, 3, 4, 5, e 6 e as linhagens intolerantes, com os números de 7 a 12, respectivamente.

6 CONCLUSÃO

Sementes de milho apresentam diferenças significativas nos valores de germinação e de vigor após secagem artificial, indicando que a susceptibilidade à injúria por alta temperatura de secagem é dependente da linhagem.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, D.; DALPASQUALE, V. A. Custos de secagem de sementes de milho (*Zea mays* L.) em espigas usando simulação matemática. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 55-66, Jan. 2000.

BAKER, K. D.; PAULSEN, M. R.; VAN-ZWEDEN, J. Hybrid and drying rate effects on seed corn viability. **Transactions of the ASAE**, St. Paul, v. 34, n. 2, p. 499-506, Mar./Apr. 1991.

BAKER, K. D.; PAULSEN, M. R.; VAN-ZWEDEN, J. Temperature effects on seed corn dryer performance. **Applied Engineering in Agriculture**, St. Joseph, v. 9, n. 1, p. 79-83, Jan. 1993.

BELILAQUA, G. A. P.; PESKE, S. T.; FILHO, B. G. S.; SANTOS, D. S. B. Efeito da embebição-secagem de sementes de cenoura no vigor e potencial de armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 3, n. 3, p. 131-138, set./out. 1997.

BRACCINI, A. de L. e.; BRACCINI, M. do C. L.; SCAPIM, C. A. Mecanismos de deterioração das sementes: aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 10-15, dez. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BURRIS, J. S.; MADDEN, R. F. Early germination physiology in maize embryos damaged by high temperature desiccation. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology, 4., 1992, Angers, France. **Proceedings....** Angers, France, 1993. v. 2, p. 491-496.

BURRIS, J. S.; NAVRATIL, R. J. Drying high-moisture seed corn. **Proceeding Annual Corn Sorghum Research Congress**, Dordrecht, v. 35, p. 116-132, 1980.

BURRIS, J. S.; PETERSON, J. M.; PERDOMO. Morphological and physiological changes associated with desiccation in maize embryos. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: BASIC AND APPLIED ASPECTS OF SEED BIOLOGY, 5., 1995, Reading. **Proceedings....** Reding: University of Reading, 1997. p. 103-111.

CAL, J. P.; OBENDORF, R. L. Imbibitional chilling injury in *Zea Mays* L. altered by initial kernel moisture and maternal parent. **Crop Science**, Madison, v. 12, n. 3, p. 369-373, May/June 1972.

CARTER, M. W.; PONELEIT, C. G. Black layer maturity and filling period among inbreed lines of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 13, n. p. 436-476, July/Aug. 1973.

CROWE, J. H.; CROWE, L. M. Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 83-91, Jan. 1989.

CUI, K. H.; PENG, S. B.; XING, Y. Z.; XU, C. G.; ZHANG, Q. Molecular dissection of seedling-vigor and associated physiological traits in rice. **Theoretical Applied and Genetics**, Berlin, v. 105, n. 5, p. 745-753, Oct. 2002.

DIAS, M. C. L. de; BARROS, A. S. do R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1995. 41 p. (IAPAR. Circular, 88).

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e resumos...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FESSEL, S. A.; VIEIRA, R. D.; MENDONÇA, E. A. F. de; CARVALHO, R. V. de. Maturidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 191-197, 2001.

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

LEPRINCE, O.; VERTUCCI, C. W.; HENDRY, G. A. F.; ATHERTON, N. M. The expression of desiccation induced damage in orthodox seeds is a function of oxygen and temperature. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 94, n. 2, p. 233-240, June 1995.

MADDEN, R. F.; BURRIS, J. S. Respiration and mitochondrial characteristics of imbibing maize embryos damaged by high temperatures during desiccation. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 6, p. 1661-1667, Nov./Dec. 1995.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R da. **Avaliação da qualidade das sementes**, Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. The effect of drying temperature on corn seed quality. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, n. 3, p. 487-496, June 1984.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. Small-scale dryer designer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 1, p. 159-161, Jan./Feb. 1982.

PEPLINSKI, A. J. et al. Drying of high moisture corn: changes in properties and physical quality. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 71, n. 2, p. 129-133, Mar./Apr. 1994.

RAMALHO, M A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAMOS, A.; CARNEIRO, J. G. de A. Envelhecimento artificial de sementes de pinheiro do paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 19-24, jan. 1991.

ROBERTS, E. H. Physiology of ageing and its application to drying and storage. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 9, n. 2, p. 359-372, 1981.

ROSA, S. D. V. F. da. **Indução de tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento a baixa temperatura.** 2000. 121 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROSA, S. D. V. F. da; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; VEIGA, R. D. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 54-63, 2000.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Secagem das sementes:** manual das sementes, tecnologia da produção. Piracicaba: ESALQ, 1977. 123-143.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132.

CAPÍTULO 3

1 RESUMO

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Controle genético da tolerância à alta temperatura de secagem de sementes de milho.** 2003. Cap..3 Tese (Tese-Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

O conhecimento do controle genético para a tolerância a alta temperatura de secagem é fundamental para diminuir o trabalho e o custo nos programas de melhoramento de milho. Nesta pesquisa, foi estudado o controle genético para tolerância a alta temperatura de secagem de sementes de milho utilizando características fisiológicas das sementes. Para isso foram utilizadas doze linhagens, previamente selecionadas, sendo 6 tolerantes e 6 intolerantes a alta temperatura de secagem, para compor um dialelo parcial mais as linhagens parentais. As sementes foram colhidas manualmente em espigas com teor de água em torno de 35% e secadas a 45°C até atingirem o conteúdo final de água de aproximadamente 8%. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por meio dos testes de primeira contagem e contagem final do teste de germinação, teste frio sem solo, envelhecimento acelerado e teste de condutividade elétrica. Os efeitos da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, bem como os efeitos recíprocos, foram significativos para a tolerância a alta temperatura de secagem. Dentro da variabilidade genotípica observada nos cruzamentos, o efeito recíproco concorreu para 53, 50, 50, 47 e 42,7% para a primeira contagem, contagem final do teste de germinação, teste frio, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, respectivamente. A significância do efeito recíproco indica que a tolerância a alta temperatura de secagem pode ser explicada pelo efeito materno. Com a variação genética observada é possível desenvolver genótipos tolerantes a alta temperatura de secagem por meio de cruzamentos direcionados.

* Comitê Orientador: Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Genetic control of corn seeds tolerance to high drying temperature.** Chap. 3. Thesis (Thesis – Doctorate in Plant Science) – Federal University of Lavras, Lavras.*

The knowledge of the genetic control for the high drying temperature tolerance is fundamental to diminish the work and the cost in the vorn breeding programs. The objective of this research was to study the genetic control for high drying temperature tolerance in corn seeds, by using the physiological characteristics of the seed. For this purpose, six tolerant and six intolerant lines to high drying temperature were evaluated in a 6 x 6 partial diallel plus the parental lines. The seeds were harvested by hand on corn cobs with water content near 35% and dried at 45°C up to 8% water content. The physiological quality of seeds was evaluated through the first and final counting of the germination tests, cold test without soil, accelerated aging and electrical conductivity test. The effects of the general (CGC) and specific (CEC) ability of combination, and the reciprocal effects were significant for the high drying temperature tolerance. Inside the genotypical variability observed in the crossings, the reciprocal effects occurred for 53, 50, 50, 47 and 42,7% for the first counting, final counting of the germination test, cold test, accelerated aging and electrical conductivity, respectively. The significance of the reciprocal effect indicates that the high drying temperature tolerance can be explained by the maternal effect. With the observed genetic variation it is possible to develop genotypes tolerant to high drying temperature, through directed crossings.

* Guidance Committee: Dr. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Major Professor), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A demanda por sementes de alta qualidade tem crescido substancialmente nos últimos anos, o que exige das empresas produtoras de sementes padrões de qualidade mais rígidos, aliados a tecnologias que tornem mais viáveis o sistema de produção.

Dentre as operações de pós-colheita destaca-se a secagem artificial, que tem maior relevância quando se trata de colheita de sementes de milho em espigas com elevado teor de água. Apesar das vantagens que apresenta, a secagem artificial tem sido causa de danos nas sementes, com significativas reduções na sua qualidade fisiológica. A intensidade desses danos varia com as condições de secagem, a qualidade e os teores de água iniciais das sementes, aliados aos aspectos genéticos.

A seleção de genótipos tolerantes a alta temperatura de secagem pode propiciar a redução no tempo de secagem com a adoção de temperaturas mais altas, o que proporciona maior eficiência nas diferentes etapas do processo. Sendo assim, a tolerância a alta temperatura de secagem é uma característica importante a ser avaliada nos programas de melhoramento de milho. Uma condição essencial para tornar eficiente qualquer programa de melhoramento genético é o estudo, com relação à população base ou aos genitores escolhidos, dos sistemas poligênicos que determinam as características quantitativas de interesse. Tal procedimento permite avaliar a variabilidade genética existente entre os parentais selecionados, bem como inferir sobre os tipos e as importâncias relativas dos efeitos gênicos que atuam na determinação dos caracteres. Para realizar esses estudos é comum o uso de um sistema de cruzamentos denominado dialelo (Wricke & Weber, 1986).

Vários métodos de análises dialélicas foram desenvolvidos, objetivando estudar a capacidade de combinação dos pais, geral e específica e, se os híbridos recíprocos são incluídos, a presença de efeitos gênicos extranucleares.

Em sementes de milho, diferenças na expressão fenotípica entre híbridos e recíprocos têm sido observados para várias características como peso seco do embrião e endosperma, taxa de crescimento do grão, proteína e óleo no embrião, síntese de zeína, germinação de sementes a baixa temperatura e tolerância a injúrias por secagem (Bagnara & Daynard, 1983, Miller & Brimhall, 1951; Chaudhuri & Messing, 1994, citados por Kollipara et al., 2002).

A susceptibilidade das sementes à injúria por secagem varia com o tipo de genótipo, existindo diferenças entre os cruzamentos dependendo do parental utilizado (Navratil, 1981). A variabilidade genética para a tolerância à injúria por secagem é devida principalmente aos efeitos aditivos e maternos (Bdliya & Burris, 1988). Entretanto, são praticamente inexistentes trabalhos referentes ao estudo do controle genético para tolerância a altas temperaturas de secagem, envolvendo materiais de clima tropical. O conhecimento desse controle é fundamental para reduzir o trabalho nos programas de melhoramento, permitindo o direcionamento durante o processo de seleção.

Portanto, o objetivo desta pesquisa foi estudar o controle genético para tolerância a alta temperatura de secagem de sementes de milho, por meio de um cruzamento dialélico parcial, utilizando características fisiológicas das sementes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na área experimental e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

A partir dos grupos das seis linhagens tolerantes (G1, linhagens 30, 42, 40, 86, 65, 91, designadas de 1 a 6) e das seis intolerantes (G2, linhagens 50, 57, 43, 41, 74, 84, designadas de 7 a 12) a alta temperatura de secagem, as quais foram selecionadas em experimento anterior, foram obtidos híbridos simples de milho, incluindo os recíprocos, utilizando-se o sistema de cruzamento dialelo parcial, mais as linhagens parentais. A semeadura das sementes das linhagens tratadas com o inseticida Cruiser, na dosagem de 60g do produto comercial/200Kg de sementes, foi realizada em três épocas distintas, nos dias 10, 16 e 20/11/2000, para garantir a coincidência do florescimento entre os parentais. O campo de cruzamentos foi composto de dezoito linhas de 15 metros para cada linhagem, espaçadas de 0,80m. Na adubação de semeadura utilizaram-se 400 kg ha⁻¹ de 8-28-16 e na primeira e segunda coberturas, 400 kg/ha de 20-0-20 e 180 kg/ha de uréia, respectivamente. Antes da emissão dos estilo-estigmas, as espigas de cada planta foram protegidas com sacos plásticos para garantir os cruzamentos desejáveis. As condições climáticas durante o desenvolvimento da cultura se encontram na Tabela 3B.

Durante o processo de maturação das sementes, as espigas foram amostradas para determinação do teor de água, utilizando-se o método da estufa a 130°C, por 4 horas, conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). A colheita foi realizada quando as sementes atingiram aproximadamente 35% de teor de água. As espigas foram colhidas manualmente e em seguida submetidas à secagem artificial a 45°C até atingirem o conteúdo de água de aproximadamente 8%. Para a secagem das espigas foram utilizados secadores experimentais de pequena escala, construídos de acordo com Navratil & Burris (1982), e o fluxo de ar utilizado foi de 23,0 m³min⁻¹t⁻¹. Os valores diários de umidade relativa e temperatura do ar ambiente, correspondentes ao período de secagem das sementes, se encontram na Tabela 4B. Sementes secadas à sombra foram utilizadas como testemunha. Os dados de germinação

das sementes das linhagens produzidas na safra 1999/00 e secadas artificialmente e à sombra foram utilizados nesta pesquisa.

As sementes, retidas na peneira 16 de crivo circular, foram tratadas com os fungicidas Tecto 600[®] (60g/100Kg de sementes) e Captan[®] (150g/100Kg de sementes), e permaneceram em câmara fria e seca regulada a $\pm 15^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 50% até as avaliações da qualidade fisiológica das sementes.

4.1 Avaliações fisiológicas

4.1.1 Teste de germinação

Cinquenta sementes para cada repetição foram semeadas entre papel toalha tipo Germitest umedecido com água destilada na proporção de 2,5 mL:1g de papel. As sementes permaneceram no germinador regulado para 25°C e as avaliações foram efetuadas aos 7 dias após a instalação do teste, segundo recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média das quatro repetições.

4.1.2 Primeira contagem de germinação

Aos quatro dias de semeadura do teste de germinação foram computadas as plântulas normais que apresentavam pelo menos 1,5 cm de parte aérea, duas raízes seminais e a raiz principal. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.1.3 Teste frio sem solo

Cinquenta sementes por repetição foram distribuídas em papel toalha umedecido com água destilada numa proporção de três vezes o seu peso seco, perfazendo um total de duzentas sementes por tratamento. Os rolos foram confeccionados como no teste de germinação e após semeadura foram colocados no interior de sacos plásticos e mantidos em câmara regulada a 10°C durante 7 dias. Decorrido este prazo, os rolos foram transferidos para o germinador regulado para 25°C e as plântulas normais que apresentavam parte aérea com 2,5 cm, duas raízes seminais e a raiz principal foram computadas aos 4 e 7 dias (Dias & Barros, 1995).

4.1.4 Condutividade elétrica

Vinte e cinco sementes por repetição, aparentemente intactas, foram selecionadas e pesadas para cada tratamento. Em seguida foram imersas em 75 mL de água destilada por 24 horas à temperatura de 25°C. Por meio de um condutímetro de massa da marca DIGIMED, modelo CD 21A, foi efetuada a leitura em μS ; os resultados foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes (Marcos Filho et al., 1987).

4.1.5 Envelhecimento acelerado

O método utilizado foi o de mini câmeras do tipo ‘gerbox’, onde as sementes foram distribuídas sobre uma tela suspensa no interior de cada caixa contendo 40 mL de água. As sementes permaneceram incubadas durante 96 horas, numa temperatura de 41°C, e em seguida foi efetuado o teste de germinação (Marcos-Filho, 1994). As avaliações das plântulas foram realizadas

quando estas apresentavam 2,5 cm de parte aérea, pelo menos duas raízes seminais e a raiz principal.

4.2 Procedimento estatístico

Os testes realizados para avaliação da qualidade fisiológica das sementes seguiram o delineamento experimental em blocos casualizados com quatro repetições. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Sisvar (Sistema de Análise de Variâncias) para Windows (Ferreira, 2000) e a comparação das médias foi feita pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Quando necessário, foram realizadas as transformações dos dados.

Também foi realizada a análise de variância conjunta dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica das sementes das linhagens produzidas nas safras de 1999/00 e 2000/01.

4.2.1 Estimativas das capacidades geral e específica de combinação e do efeito recíproco

Devido à falta de sementes de alguns híbridos e de linhagens durante a produção de sementes, conseqüentemente gerando desbalanceamento dos dados, as análises de variâncias foram realizadas utilizando-se o PROC GLM, do pacote estatístico SAS – Statistical Analysis System - (SAS, 1995). As estimativas das capacidades geral e específica de combinação e efeito recíproco foram obtidas por meio do PROC IML do referido programa.

De posse das estimativas das capacidades gerais de combinação (CGC's), das capacidades específicas de combinação (CEC's) e dos efeitos recíprocos, obteve-se a soma dos quadrados tipo II da Anova. Optou-se por esse tipo de soma de quadrados por corresponder à variação ajustada aos demais

efeitos quando se utilizam restrições ponderadas no modelo estatístico (Ferreira, 2001), como foi feito no presente estudo.

Utilizando os resultados médios, foram estimados os parâmetros genéticos associados ao cruzamento dialelo utilizando o modelo proposto por Griffing (1956) e adaptado ao dialelo parcial (Cruz & Regazzi, 1994):

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij}$$

em que:

Y_{ijk} : é o valor observado na parcela que recebeu o i-ésimo genitor do grupo G1 e o j-ésimo do genitor do G2;

μ : é o efeito de uma constante comum a todas as observações;

g_i : efeito da capacidade geral de combinação do i-ésimo genitor do grupo 1;

g_j : efeito da capacidade de combinação do j-ésimo genitor do grupo 2;

s_{ij} : efeito da capacidade específica de combinação entre genitores de ordem i e j dos grupos 1 e 2, respectivamente;

r_{ij} : efeito recíproco do cruzamento ij

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância conjunta dos dados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica das sementes das linhagens produzidas nas duas safras se encontra na Tabela 2A. Para os testes de germinação, de frio e envelhecimento acelerado foram observadas diferenças significativas para a interação safras x linhagens, indicando que o comportamento das linhagens quanto à tolerância a alta temperatura de secagem não foi consistente nos diferentes anos de produção.

As linhagens 1, 2 e 6, por exemplo, foram tolerantes a alta temperatura de secagem na safra 1999/00 e intolerantes na safra 2000/01 (Tabela 1). O mesmo ocorreu para as sementes das linhagens 9 e 10, que na safra 99/00 apresentaram-se como intolerantes e na safra de 2000/01, entre as mais tolerantes.

A germinação das sementes das linhagens foi afetada pelo processo de secagem, uma vez que maiores valores de germinação das sementes foram observados quando colhidas com 18% de teor de água e secadas à sombra (Tabela 2). Quando se compararam os valores de germinação e de vigor das sementes produzidas nas duas safras, após secagem artificial, foi observada redução significativa desses valores nas sementes produzidas na safra 2000/01 (Tabela 1), demonstrando que as condições ambientais afetaram o comportamento das linhagens para a tolerância a alta temperatura de secagem. Com base nesses resultados, seria interessante avaliar a tolerância das sementes das linhagens a alta temperatura de secagem em mais de um local, em vários anos e com um número maior de repetições.

Até o momento da colheita, o vigor e o poder germinativo das sementes podem decrescer devido aos eventos relacionados ao processo de deterioração os quais variam em função das condições desfavoráveis do ambiente, o que pode ter ocasionado essas diferenças na qualidade das sementes das linhagens produzidas nas duas safras. Carvalho & Nakagawa (2000) e Guiscem et al. (2002) também constataram que a qualidade inicial das sementes foi afetada pelas condições climáticas durante o processo de produção.

TABELA 1 - Valores médios do teste de germinação (TG), teste frio (TF) e envelhecimento acelerado (EA) de sementes das linhagens (L) de milho produzidas nas safras 1999/00 e 2000/01 e submetidas à secagem artificial. UFLA, Lavras – MG, 2003.

L	TG (%)		L	TF (%)		L	EA (%)	
	1999/00	2000/01		1999/00	2000/01		1999/00	2000/01
1	95	8	1	84	4	1	91	0
2	100	12	2	91	2	2	86	0
3	99	63	3	97	17	3	95	17
4	99	49	4	98	27	4	95	17
5	99	82	5	97	52	5	98	8
6	99	30	6	99	6	6	99	1
7	66	16	7	43	4	7	22	0
8	56	4	8	53	2	8	26	1
9	43	-	9	37	91	9	1	92
10	57	78	10	34	67	10	19	90
11	56	60	11	25	13	11	33	16
12	11	3	12	9	0	12	0	1

TABELA 2 - Porcentagem de plântulas normais do teste de germinação (TG) de linhagens de milho secadas à sombra. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Linhagens	Safra 1999/00	Safra 2000/01¹
1	76	92
2	96	83
3	98	83
4	99	91
5	99	88
6	100	96
7	92	91
8	98	-
9	97	99
10	99	86
11	100	90
12	97	96

¹ Teste realizado após 16 meses de armazenamento.

A análise de variância do dialelo parcial se encontra na Tabela 3A. Para todas as variáveis avaliadas, dentro da fonte de variação genitores houve diferenças na qualidade fisiológica das sementes das linhagens do grupo 1 e entre as do grupo 2. Comparando os valores observados para os dois grupos, somente para o teste de condutividade elétrica o comportamento foi semelhante. Os efeitos da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, bem como os efeitos recíprocos, foram significativos em todos os testes fisiológicos utilizados para a avaliação da sensibilidade das sementes à alta temperatura de secagem. Diferenças significativas foram verificadas para a capacidade geral de combinação (CGC) das linhagens do grupo 1, indicando que existem linhagens desse grupo que se comportam melhor na média geral dos cruzamentos, com as

linhagens do grupo 2. O mesmo pode ser citado para as linhagens do grupo 2, quando cruzadas com as do grupo 1. Quanto ao efeito significativo da CEC, pode-se inferir que existem cruzamentos que diferem da média dos pais para todas as variáveis analisadas.

Para a variabilidade genotípica observada nos cruzamentos, ou seja, na soma dos quadrados (SQ) (Tabela 3A), o efeito recíproco contribuiu com 53, 50, 50, 47 e 42,7% da variação para a primeira contagem, a contagem final do teste de germinação, o teste frio, o envelhecimento acelerado e a condutividade elétrica, respectivamente, valores maiores que o obtido por Ibrahim & Quick (2001) para a estabilidade térmica das membranas da folha de trigo num estudo do controle genético para a tolerância a alta temperatura de secagem. A CEC contribuiu para 25, 27,5, 24, 22 e 12,3% dessa variação e a CGC de ambos os grupos representaram 22, 22,5, 26, 31 e 45% da Soma dos Quadrados dos cruzamentos para os mesmos testes, respectivamente (Tabela 3A).

Elevadas estimativas de CGC, sejam positivas ou negativas, indicam genótipos superiores ou inferiores aos restantes, com os quais foram comparados, para uma determinada característica. Baixas estimativas já indicam genótipos com combinações que não diferem significativamente da média dos cruzamentos no sistema dialélico (Lopes et al., 1985).

Estimativas altas e positivas da CGC no teste de germinação foram observadas para as linhagens 9, 5 e 8 e estimativas baixas, para as linhagens 11 e 6 (Tabela 3).

A média dos valores de germinação envolvendo sementes provenientes dos cruzamentos em que a linhagem 9 participou como parental feminino foi de 83% e como parental masculino, de 63% (Tabela 4), considerando as combinações nas quais os recíprocos foram incluídos. Para a linhagem 5, esses valores foram de 75 e 68%, e para linhagem 8, de 72 e 68%, respectivamente.

TABELA 3 - Estimativa dos efeitos das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação para o teste de germinação, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	CGC
1	5.49	6.55	-	-11.41	-8.16	7.52	0.59
2	-1.96	22.60	-	-4.11	9.14	-25.68	1.79
3	13.18	-26.26	11.05	-8.96	4.78	6.21	0.65
4	-	8.25	-	6.29	-	-14.53	-1.36
5	9.45	-2.30	-18.75	-1.01	-5.76	18.36	9.94
6	-26.16	-8.85	7.70	19.19	-	8.12	-14.26
CGC	-1.96	9.23	12.68	2.18	-23.81	-0.242	

As médias gerais de germinação, correspondentes aos cruzamentos em que as linhagens 11 e 6 participaram como parental feminino e masculino, foram, respectivamente, de 27 e 55% e de 38 e 65% (Tabela 4).

Observa-se que houve diferenças na germinação média das sementes das linhagens quando as mesmas foram utilizadas como parental feminino e masculino. Essas diferenças tornaram-se mais acentuadas nas linhagens que apresentaram estimativas de CGC elevada e negativa, a exemplo das linhagens 11 e 6, que também apresentaram melhor performance quando utilizadas como progenitor masculino, à semelhança do que foi verificado por Bdliya & Burris (1988).

TABELA 4 - Valores médios em porcentagem do teste de germinação de sementes de milho, num esquema de dialelo parcial, envolvendo seis genitores no grupo 1 (G1) e no grupo 2 (G2), híbridos F₁'s e recíprocos. UFLA, Lavras- MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	G1
1 F	92 a	64 c	- -	62 c	60 d	81 b	8 h
M	40 e	92 a	97 a	44 e	0 h	58 d	
2 F	86 b	100 a	- -	65 c	44 e	21 g	12 g
M	33 f	90 a	2 h	58 d	53 d	54 d	
3 F	88 a	90 a	94 a	69 c	56 d	71 c	63 c
M	59 d	1 h	78 b	42 e	30 f	66 c	
4 F	11 h	59 d	- -	45 e	69 c	31 f	49 d
M	- -	96 a	95 a	92 a	- -	60 d	
5 F	90 a	85 b	56 d	67 c	59 d	92 a	82 a
M	68 c	72 c	75 b	79 b	25 f	87 a	
6 F	23 f	13 g	40 e	64 c	19 g	49 d	30 f
M	15 g	82 b	95 a	74 c	- -	61 d	
G2	16 g	4 h	- -	78 b	60 d	3 h	

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

F: corresponde à linhagem quando utilizada como parental feminino; M: como parental masculino.

Para o teste frio, as linhagens 8 e 5 apresentaram CGC elevada e positiva (Tabela 5), com média de germinação das sementes, nos cruzamentos que participaram de 60 e 49% e de 62 e 32%, respectivamente, como genitor feminino e masculino (Tabela 6). Para as linhagens 11 e 6, com estimativas da CGC elevada e negativa (Tabela 5), esses valores foram de 10 e 21% e 15 e 39%, respectivamente (Tabela 6).

TABELA 5 - Estimativa dos efeitos das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação para o teste frio, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	CGC
1	11.10	1.16	-	-8.22	-0.54	-3.50	6.32
2	11.14	20.69	-27.18	4.32	5.25	-14.22	-5.22
3	7.39	-16.06	9.32	-10.68	1.50	8.53	2.78
4	-19.81	9.74	23.37	-0.13	-	-13.17	-5.02
5	4.74	-13.52	-15.89	4.86	-6.21	26.01	11.99
6	-14.56	-2.01	10.37	9.87	-	-3.67	-12.77
CGC	-3.35	18.60	5.47	-4.27	-21.46	-1.24	

Os valores médios observados nos testes de germinação e de frio foram superiores aos encontrados por Bdlyia & Burris (1988). Nessa pesquisa as sementes das linhagens, colhidas com elevados teores de água, foram secadas à temperatura de 50°C.

Linhagens com altas estimativas de CGC, sejam positivas ou negativas, deverão influenciar nas médias dos cruzamentos em que participam, em relação à média geral dos híbridos F₁'s. No presente estudo, para a linhagem 8, por exemplo, foi observada estimativa da CGC elevada e positiva, apresentando um valor médio de 54,58% de vigor nos cruzamentos em que participou no teste

frio. Este valor foi superior à média de todos os híbridos do dialelo, que foi de 35,8% (Tabela 6). Com uma estimativa alta, porém negativa para a CGC, a linhagem 11 apresentou, na média dos cruzamentos que participou, 19% de vigor pelo teste frio, bem inferior à média geral. Sendo assim, a linhagem 11 contribuiu com genes de ação aditiva, transmitindo aos seus descendentes sensibilidade a alta temperatura de secagem. Segundo Ibrahim & Quick (2001), o controle genético para tolerância térmica em folhas de trigo, avaliado pela estabilidade térmica das membranas (MTS), parece ser condicionado por genes aditivos, constatando que progênies de cruzamentos que envolveram pais com capacidade geral de combinação positiva demonstraram ter alto nível de MTS, sendo o inverso também verdadeiro.

Os cruzamentos que envolveram as linhagens 11 e 6 como parental feminino produziram descendentes com baixos valores de germinação tanto no teste frio como no de germinação (Tabelas 4 e 6); no entanto, comparando-os com seus recíprocos, a maioria apresentou uma maior tolerância a alta temperatura de secagem. O pólen parece não ter interferido na tolerância à injúria por secagem em suas progênies, concordando com os resultados obtidos por Bdliya & Burris (1988). Efeito significativo do parental feminino é um indicativo de herança materna.

TABELA 6 - Valores médios em porcentagem do teste frio de sementes de milho, num esquema de dialelo parcial, envolvendo seis genitores no grupo 1 (G1) e no grupo 2 (G2), híbridos F₁'s e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	G1
1 F	78 b	46 e	- -	38 f	41 e	61 d	4 i
M	23 g	79 b	66 c	23 g	0 i	15 h	
2 F	68 c	75 c	18 h	32 f	10 h	11 h	2 i
M	11 h	66 c	1 i	30 f	20 g	20 g	
3 F	54 d	82 b	- -	33 f	23 g	48 e	17 h
M	33 f	1 i	29 f	15 h	16 h	45 e	
4 F	2 i	26 g	56 d	3 i	39 f	4 i	27 g
M	14 h	93 a	64 d	51 e	- -	30 f	
5 F	86 a	60 d	51 e	54 d	39 f	84 b	52 e
M	13 h	47 e	25 g	44 e	3 i	62 d	
6 F	8 i	8 i	22 g	18 h	11 h	17 h	6 i
M	3 i	72 c	57 d	41 e	- -	20 g	
G2	4 i	2 i	91 a	67 c	13 h	0 i	

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

F: corresponde à linhagem quando utilizada como parental feminino; M: como parental masculino.

Pelos resultados apresentados, observa-se que os valores de germinação no teste frio foram mais baixos que os observados no teste de germinação, indicando uma maior sensibilidade do teste frio em detectar danos por secagem. Esses resultados concordam com os observados por Madden & Burris(1995), os quais verificaram maior redução na viabilidade das sementes de milho híbrido secadas a 45°C, quando submetidas ao teste frio. Entretanto, Burris & Navratil (1980) verificaram que essa sensibilidade das sementes à embebição em baixas temperaturas é dependente da temperatura de secagem. Segundo esses autores, sementes de milho secadas a 50°C apresentaram germinação inferior à daquelas secadas a 45°C, no teste frio.

À semelhança do que ocorreu para o teste de germinação, as linhagens 9 e 5 foram as que mais contribuíram para uma maior porcentagem de germinação nos cruzamentos nos quais participaram, avaliada na primeira contagem de germinação, ao contrário das linhagens 11 e 6, por apresentarem CGC elevada e negativa (Tabela 8). Estimativas elevadas e positivas para CGC indicam que as linhagens 5 e 9 são capazes de transmitir, aos descendentes, tolerância a alta temperatura de secagem, propiciando valores de vigor mais elevados. Os valores médios observados na primeira contagem de germinação para aqueles cruzamentos em que a linhagem 9 foi utilizada como parental feminino e masculino foram, respectivamente, 70 e 55%, e para a linhagem 5, 57 e 44%. Para as linhagem 11, esses valores foram de 18 e 37%, e para a linhagem 6, 19 e 54%, respectivamente (Tabela 7).

TABELA 7 - Valores médios em porcentagem da primeira contagem do teste de germinação de sementes de milho, num esquema de dialelo parcial, envolvendo seis genitores no grupo 1 (G1) e no grupo 2 (G2), híbridos F₁'s e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	G1
1 F	81 a	51 c	- -	44 c	42 c	67 b	3 g
M	25 e	83 a	89 a	34 d	0 h	21 e	
2 F	68 b	68 b	- -	27 e	21 e	9 g	0 g
M	16 f	62 b	1 h	30 d	32 d	14 f	
3 F	77 a	83 a	90 a	51 c	48 c	54 c	26 g
M	46 c	1 h	61 b	33 d	23 e	53 c	
4 F	3 g	27 e	- -	21 e	56 c	12 f	29 g
M	- -	63 b	42 c	68 b	- -	22 e	
5 F	82 a	68 b	46 c	40 d	38 d	71 b	59 g
M	40 d	50 c	60 b	45 c	17 f	55 c	
6 F	15 f	3 g	29 d	20 e	10 g	27 e	11 g
M	4 g	74 b	88 a	60 b	- -	42 c	
G2	6 g	1 g	- -	48 g	42 g	0 g	

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

F: corresponde à linhagem quando utilizada como parental feminino; M: como parental masculino.

TABELA 8 - Estimativa dos efeitos das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação para a primeira contagem do teste de germinação¹, considerando-se todos os cruzamentos em que se obteve híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	CGC
1	0.47	1.15	-	-0.27	-1.54	0.19	0.26
2	0.25	1.57	-	-0.57	1.00	-2.25	-0.40
3	0.94	-2.58	0.39	-0.39	0.75	0.89	0.58
4	-	0.38	-	0.83	-	-1.21	-0.66
5	0.59	0.10	-1.22	-0.54	-0.22	1.30	0.8
6	-2.24	-0.61	0.83	0.94	-	1.09	-1.11
CGC	0.07	0.57	1.50	0.06	-1.66	-0.33	

¹Dados transformados em raiz de x.

A mesma tendência nas estimativas das CGC's observadas nos demais testes foi verificada para os testes de condutividade elétrica (Tabela 9) e envelhecimento acelerado (Tabela 10). No entanto, destacaram-se as linhagens 1 e 2 por não apresentarem boa capacidade combinatória pelo teste de condutividade elétrica e envelhecimento acelerado, respectivamente, e a linhagem 6, que no teste de condutividade elétrica não teve o mesmo comportamento observado nos testes de germinação, frio e de envelhecimento acelerado. As linhagens 8, 5 e 9 utilizadas como parental feminino para ambos os testes também apresentaram uma melhor performance comparada aos seus recíprocos (Tabelas 11 e 12). As médias dos valores de condutividade nos cruzamentos em que as linhagens 8, 5 e 9 foram utilizadas como parental feminino e masculino foram, respectivamente, de 23 e 36, de 28 e 36, e de 28 e 32 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes. Para as linhagens 1 e 11, esses valores foram, respectivamente, de 51 e 41 e de 48 e 38 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes (Tabela 11). Para

TABELA 9 - Estimativa dos efeitos das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação para o teste de condutividade elétrica¹, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	CGC
1	0.0025	0.0137	-	0.0279	-0.0183	-0.0258	0.0985
2	-0.0520	0.0666	-	-0.0785	0.0448	0.0190	0.0126
3	0.0065	-0.0031	-0.0340	0.0402	-0.0328	0.0232	-0.0127
4	-	-	-	-0.0249	-	0.0249	-0.0071
5	-0.0652	0.0053	0.0599	0.0155	0.0063	-0.0219	-0.0572
6	0.1082	-0.0824	-0.0258	0.0196	-	-0.0195	-0.0242
CGC	-0.0074	-0.1161	-0.0390	0.0357	0.0625	0.0450	

¹Dados transformados em log x.

TABELA 10 - Estimativa dos efeitos das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação para o teste de envelhecimento acelerado, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	CGC
1	-2.84	2.89	4.70	-5.57	3.66	-2.84	3.57
2	15.46	20.19	-25.82	3.48	-2.78	-10.53	-14.23
3	7.55	-21.73	15.26	-14.18	0.55	12.55	8.93
4	-26.36	1.87	20.11	19.41	7.32	-22.35	0.59
5	19.59	-2.05	-20.57	-8.26	-5.27	16.56	12.76
6	-13.40	-1.17	6.32	5.12	-3.48	6.61	-11.62
CGC	-3.42	20.85	9.86	-11.19	-12.68	-3.43	

TABELA 11 - Valores médios do teste de condutividade elétrica, em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes de milho, num esquema de dialelo parcial, envolvendo seis genitores no grupo 1 (G1) e no grupo 2 (G2), híbridos F₁'s e recíprocos. UFLA, Lavras– MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	G1
1 F	55.19 i	54.63 i	- -	55.93 i	47.02 h	44.71 h	70.73 j
M	35.37 j	23.25 b	28.69 d	47.98 h	51.99 i	49.04 h	
2 F	32.45 e	53.82 i	- -	27.10 d	46.63 h	40.47 g	36.80 f
M	31.56 e	19.89 a	45.51 h	40.98 g	47.28 h	44.90 h	
3 F	33.42 e	26.29 d	30.55 e	37.46 f	28.26 d	36.26 f	45.25 h
M	35.79 f	26.34 d	27.96 d	45.29 h	48.56 h	45.22 h	
4 F	47.64 h	- -	- -	45.28 h	33.73 e	39.45 g	39.65 g
M	- -	21.80 b	24.89 c	28.44 d	- -	42.89 g	
5 F	26.42 d	22.71 b	35.20 f	28.13 d	29.83 e	24.97 c	30.98 e
M	26.47 d	25.81 d	30.82 e	44.11 h	45.04 h	43.44 h	
6 F	49.24 h	23.37 b	31.57 e	36.69 f	28.52 d	27.75 d	29.77 e
M	36.87 f	19.50 a	26.61 d	39.97 g	- -	46.03 h	
G2	36.48 f	27.27 d	- -	37.61 f	37.28 f	65.26 j	

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

F: corresponde à linhagem quando utilizada como parental feminino; M: como parental masculino.

TABELA 12 - Valores médios em porcentagem do teste de envelhecimento acelerado de sementes de milho, num esquema de dialelo parcial, envolvendo seis genitores no grupo 1 (G1) e no grupo 2 (G2), híbridos F₁'s e recíprocos. UFLA, Lavras - MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12	G1
1 F	50 e	36 g	7 j	32 h	50 e	49 e	0 k
M	5 k	79 b	90 a	2 k	0 k	7 j	
2 F	51 e	59 d	0 k	11 j	0 k	0 k	0 k
M	5 k	56 d	0 k	6 k	1 k	4 k	
3 F	72 c	76 b	80 b	19 i	37 g	35 g	17 i
M	15 i	1 k	49 e	9 j	17 i	62 d	
4 F	0 k	20 i	80 b	0 k	35 g	1 k	17 i
M	2 k	87 a	42 f	78 b	16 i	10 j	
5 F	87 a	65 d	39 g	33 g	27 h	61 d	8 j
M	31 h	59 d	26 h	14 j	24 i	51 e	
6 F	3 k	4 k	14 j	4 k	2 k	13 j	1 k
M	1 k	73 c	56 d	22 i	3 k	31 h	
G2	0 k	1 k	92 a	90 a	16 i	1 k	

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

F: corresponde à linhagem quando utilizada como parental feminino; M: como parental masculino.

o teste de envelhecimento acelerado (Tabela 12), as linhagens 8, 5 e 9 apresentaram valores médios nos cruzamentos que participaram como parental feminino e masculino, respectivamente, de 59 e 43%, 52 e 34% e 44 e 37%. Para as linhagens 2, 11 e 6, esses valores foram de 20 e 12 %, 10 e 25% e 7 e 31%, respectivamente.

Com relação ao teste de condutividade elétrica, quanto maior o valor de condutividade, maior a desestruturação do sistema de membranas, permitindo maior lixiviação de exudatos. Sendo assim, as melhores estimativas de CGC são aquelas com alto valor absoluto, porém negativo.

Em todos os testes utilizados para a avaliação das qualidade fisiológica das sementes submetidas a alta temperatura de secagem pôde-se constatar a consistência dos resultados obtidos para as estimativas das CGC's nos cruzamentos em que as linhagens 8, 5, 9, 11 e 6 participaram.

O efeito significativo da capacidade específica de combinação (CEC) indica a importância que determinadas interações genéticas possuem em conferir tolerância ou não aos seus descendentes, indicando que existem cruzamentos que diferem da média dos pais para essa característica.

Nos cruzamentos 6x7, 3x8 e 2x12 foram observadas estimativas elevadas e negativas de CEC's para os testes de primeira contagem (Tabela 8) e contagem final do teste de germinação (Tabela 3), independentemente de as linhagens terem sido usadas como parental feminino ou masculino; para os cruzamentos 2x8 e 5x12 foram observados valores elevados e positivos. Altos valores de CEC's indicam combinações específicas melhores ou piores com base nas capacidades gerais de combinação dos progenitores. O valor da estimativa da CEC indica o desvio em relação à média dos pais, mas não implica que a combinação em questão seja a melhor ou pior.

Maiores valores de CEC foram observados para as sementes provenientes do cruzamento 6x12 na primeira contagem de germinação, quando

comparados aos observados na contagem final. O mesmo pôde ser observado para o híbrido 6x10, cujo valor de CEC foi um dos maiores no teste de germinação.

No teste frio, elevados valores das estimativas da CEC, positivos e negativos, foram verificados para as combinações 2x8, 4x9, 5x12 e 4x7, 3x8, 2x9, respectivamente (Tabela 5). No teste de envelhecimento acelerado, as melhores combinações foram verificadas para os híbridos 5x7, 2x8 e 4x9, e as piores para 4x7, 2x9, 4x12 e 3x8 (Tabela 10).

Com relação ao teste de condutividade elétrica, menores estimativas da CEC foram observadas para os híbridos 5x7, 6x8 e 2x10 e maiores para as combinações 6x7, 2x8 e 5x9 (Tabela 9).

Segundo Herter & Burris (1989b) e Rosa et al. (2000), as sementes, independentemente da qualidade, lixiviam exudatos durante o período inicial de embebição. A injúria às membranas provocada pela secagem teve maior importância ou não, dependendo da combinação híbrida. Na interpretação do teste de condutividade, é difícil determinar qual perfil de perda de eletrólitos revela uma redução significativa na qualidade das sementes que possa comprometer seu desempenho nos demais testes. Outros tipos de danos podem afetar a viabilidade, sem aumentar os valores de condutividade elétrica. Christiansen (1978), citado por Ibrahim & Quick (2001), comentou que alta temperatura pode romper o movimento da água, íons e solutos orgânicos através das membranas, interferindo na fotossíntese e respiração.

O comportamento dos híbridos quanto à tolerância das sementes a alta temperatura de secagem de maneira geral foi consistente em todos os testes utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, com ressalva para o teste de condutividade elétrica. Em cada teste foram citadas apenas as combinações mais expressivas. O híbrido 5x7, por exemplo, que se destacou no teste de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, também apresentou

boa performance nos demais testes. Por outro lado, sementes das combinações 6x8 e 2x8 apresentaram comportamento diferenciado no teste de condutividade elétrica, quando comparado aos demais testes. A combinação 2x10, que se destacou nesse teste, não é a mais indicada para aumentar a porcentagem de germinação das sementes na primeira contagem e contagem final do teste de germinação. No entanto, nos testes de frio e envelhecimento acelerado, embora os valores tenham sido positivos, esse híbrido comportou-se como esperado, com base na capacidade geral de combinação dos progenitores. Os resultados médios de vigor pelo teste de envelhecimento acelerado, obtidos das sementes provenientes dos cruzamentos em que as linhagens 2 e 10 participaram, foram de 16 e 19%, respectivamente, e os observados para a combinação 2x10, incluindo o recíproco, foi de 8,5% (Tabela 12). No teste frio, nos cruzamentos em que houve a participação da linhagem 2, o vigor médio foi de 30%; quando da participação da linhagem 10, o vigor foi de 32%; e para o cruzamento 2x10, de 31% (Tabela 6). Pode-se observar que o vigor das sementes provenientes dessa combinação foi semelhante ao de seus progenitores com base nas suas CGC's.

Acentuadas diferenças entre genótipos de milho também foram observados por Romano Filho et al. (1997) quanto à sensibilidade a altas temperaturas de secagem. Os autores concluíram que temperatura de até 45°C pode ser utilizada para a secagem de sementes colhidas em espigas, com teor de água entre 30-40%, sem afetar a qualidade fisiológica das sementes.

Foram observadas diferenças significativas entre os genitores, representados pelas linhagens e híbridos, representados pelos cruzamentos, quanto à qualidade fisiológica das sementes (Tabela 3A). Isso significa que houve efeito médio tanto dos genitores quanto dos cruzamentos. A análise de variância dos dados observados nos testes de germinação e vigor para as linhagens e híbridos está na Tabela 4A. Os valores médios de germinação e

vigor observados para os híbridos foram superiores aos das linhagens, com exceção para o teste de condutividade elétrica (Tabelas 4, 6, 7, 11 e 12). Gomes et al. (2000) observaram que a heterose também é expressa na qualidade fisiológica das sementes. Na presente pesquisa, a qualidade fisiológica das sementes de muitas combinações foi inferior à observada para as dos seus pais, podendo-se citar as combinações 10x3 e 10x5, dentre outras. Exceção feita para o teste de condutividade elétrica, em que pouca diferença foi verificada entre os valores médios observados para essas combinações com relação à média dos respectivos pais (Tabela 11).

Has V (1999) verificou que a CEC foi mais importante que a CGC para a composição química das sementes de milho doce, indicando que o padrão de acúmulo de carboidrato no híbrido depende da interação das linhagens parentais. Também foram detectadas diferenças nos híbridos recíprocos para todas as análises de composição química das sementes. Essas diferenças podem ser atribuídas, segundo os autores, a uma interação citoplasma x genoma nuclear.

Pelas Tabelas 13 a 17, observa-se que a maior parte das combinações híbridas apresenta significância para o efeito recíproco quanto à qualidade fisiológica das sementes, tornando-se uma característica importante a ser considerada na escolha dos progenitores para a produção de sementes híbridas. A significância para o efeito recíproco indica efeito materno ou extracromossômica para a característica em questão. Zhang et al. (1996) separaram o efeito recíproco em materno e não materno. Para esses autores, o efeito materno refere-se ao efeito de fatores não reprodutivos do genótipo maternal sobre a característica de seus descendentes e o não maternal é o efeito de todos os outros fatores não nucleares sobre a característica.

TABELA 13 - Estimativa do efeito recíproco para o teste de germinação, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12
1	26**	-14.25**	-	9.25**	30.00**	11.75**
2	26.75**	5.00*	-	3.75 ^{NS}	-4.50 ^{NS}	16.25**
3	14.75**	44.50**	8.25**	13.25**	12.50**	2.50 ^{NS}
4	-	-18.50**	-	-23.50**	-	-14.25**
5	10.69**	6.25**	-9.75**	-6.00*	16.75**	2.56 ^{NS}
6	4.00 ^{NS}	-34.50**	-27.50**	-5.00*	-	-6.00*

* e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ^{NS} não significativo.

TABELA 14 - Estimativa do efeito recíproco para o frio, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12
1	27.25**	-16.25**	-	7.50**	20.50**	23.23**
2	28.25**	4.75 ^{NS}	8.25**	1.00 ^{NS}	-4.75 ^{NS}	-4.50 ^{NS}
3	10.50**	40.50**	24.75**	9.00**	3.50 ^{NS}	1.75 ^{NS}
4	-6.00*	-33.50**	-4.00 ^{NS}	-24.25**	-	-13.25**
5	36.44**	6.25*	13.25**	5.25*	18.00**	11.06**
6	2.50 ^{NS}	-32.00**	-17.25**	-11.50**	-	-1.50 ^{NS}

* e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ^{NS} não significativo.

TABELA 15 - Estimativa do efeito recíproco para a primeira contagem do teste de germinação¹, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12
1	2.03**	-0.99**	-	0.39 ^{NS}	3.20**	1.89**
2	2.14**	0.12 ^{NS}	-	-0.07 ^{NS}	-0.51*	-0.29 ^{NS}
3	1.01**	4.36**	0.84**	0.70**	1.11**	0.01 ^{NS}
4	-	-1.45**	-	-1.85**	-	-0.59*
5	1.44**	0.60*	-0.48 ^{NS}	-0.22 ^{NS}	1.04**	0.51*
6	0.89**	-3.58**	-1.98**	-1.71**	-	-0.68**

¹ Dados transformados em raiz de x.

* e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente; ^{NS} não significativo.

TABELA 16 - Estimativa do efeito recíproco para o teste envelhecimento acelerado, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12
1	22.5**	-21.50**	-41.67**	15.00**	24.75**	21.00**
2	23.00**	2.00 ^{NS}	0.00 ^{NS}	2.75 ^{NS}	-0.50 ^{NS}	-2.00 ^{NS}
3	28.25**	37.75**	15.25**	5.25**	10.00**	-13.75**
4	-1.00 ^{NS}	-33.50**	19.25**	-39.00**	9.59**	-4.50*
5	27.88**	3.25 ^{NS}	6.25**	9.50**	1.50 ^{NS}	4.91**
6	0.75 ^{NS}	-34.25**	-20.75**	-9.00**	-0.92 ^{NS}	-9.25**

* e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ^{NS} não significativo.

TABELA 17 - Estimativa do efeito recíproco para o teste de condutividade elétrica¹, considerando todos os cruzamentos em que se obtiveram híbridos e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

G1 / G2	7	8	9	10	11	12
1	0.0970**	0.1810**	-	0.0326**	-0.0216 ^{NS}	-0.0207 ^{NS}
2	0.0058 ^{NS}	0.2160**	-	-0.0914**	-0.0030 ^{NS}	-0.0231*
3	-0.0138 ^{NS}	-0.0008 ^{NS}	0.0191 ^{NS}	-0.0412**	-0.1176**	-0.0483**
4	-	-	-	0.1009**	-	-0.0181 ^{NS}
5	-0.0001 ^{NS}	-0.0279*	0.0264*	-0.0991**	-0.0887**	-0.1204**
6	0.0623**	0.0390**	0.0369**	-0.0185 ^{NS}	-	-0.1097**

¹Dados transformados em log x.

* e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ^{NS} não significativo.

Ibrahim & Quick (2001) verificaram que o efeito materno concorreu com 67% da variação recíproca para o controle genético para tolerância térmica em trigo. Em sementes de milho, diferenças na expressão fenotípica entre híbridos e recíprocos têm sido observadas não só para germinação a baixa temperatura e tolerância a injúrias por secagem, mas para outras características como peso seco do embrião e do endosperma, taxa de crescimento da semente, proteína e óleo no embrião e síntese de zeína (Bagnara e Daynard, 1983; Miller e Brimhall, 1951, Chaudhuri e Messing, 1994, citados por Kollipara et al., 2002).

Os valores observados nas Tabelas 13 a 17 correspondem às estimativas do efeito recíproco do cruzamento quando se consideraram as linhagens do grupo 1 como parental feminino. Assim, para o teste frio (Tabela 14), a estimativa de 27,25 foi verificada para a combinação 1x7 quando a linhagem 1 foi utilizada como progenitor feminino. Quando a linhagem 1 foi utilizada como parental masculino, a estimativa foi de -27,25.

Para o teste de germinação e primeira contagem (Tabelas 13 e 15), as combinações 8x3, 6x8, 11x1, 6x9, 7x2, 7x1 e 4x10 apresentaram estimativas elevadas para o efeito recíproco, o que explica as maiores diferenças nos valores de germinação observados entre as sementes dos híbridos e dos seus respectivos recíprocos (Tabelas 4 e 7).

As diferenças observadas entre híbridos e recíprocos pode estar associada à mitocôndria, uma organela do citoplasma dos eucariontes portadora de DNA com funções de replicação e transcrição independentes do DNA nuclear (Ramalho et al., 1990). O descendente de um cruzamento recebe essencialmente o citoplasma do óvulo. Sendo a fonte primária de energia durante a germinação, a mitocôndria é um elemento chave na determinação da taxa de germinação e subsequente crescimento da plântula. No entanto, o seu desenvolvimento e funcionabilidade durante estágios iniciais de hidratação do tecido embrionário são prejudicados pela alta temperatura de secagem (Madden & Burris, 1995).

É interessante observar que para os cruzamentos 2x8 e 5x12, em que a CEC foi elevada e positiva (Tabela 3), os valores de germinação das sementes dos híbridos F_1 's e de seus recíprocos foram superiores aos observados para os pais (Tabela 4). Porém, nem todas as sementes provenientes de combinações que apresentaram CEC elevada e negativa apresentaram performance inferior à média dos pais, como a observada para o híbrido 2x12 (Tabelas 3 e 4). Para os híbridos 6x7 e 3x8, com estimativas elevadas e negativas para a CEC, sementes de um dos híbridos F_1 's apresentaram germinação inferior à dos pais (Tabelas 3 e 4). Vale ressaltar que há interferência do efeito recíproco sobre a combinação híbrida. O cruzamento 3x8, por exemplo, que apresentou estimativa da CEC de -26,26 (Tabela 3), e o seu recíproco, de 44,5 (Tabela 13), apresentaram valores médios de germinação de 89,5 e 0,5% para o híbrido 8/3, para o qual o parental feminino é a linhagem 3 e 3/8, com a linhagem 8 como fêmea, respectivamente (Tabela 4). A média de germinação das sementes dos pais desse híbrido foi de

33,5%. No caso em que o efeito recíproco não foi significativo, como na combinação 6x7 (Tabela 13), a CEC foi de -26,16 (Tabela 3) e os valores de germinação das sementes provenientes dos cruzamentos 6/7 e 7/6 foram de 15% e 23%, respectivamente, sendo que a média de germinação das sementes dos pais foi de 23% (Tabela 4). Por meio desses dados observa-se que a diferença nos valores de germinação das sementes do híbrido e do seu recíproco não foi elevada e que a estimativa da CEC realmente contribuiu para reduzir a performance do híbrido com relação aos seus pais. Sabe-se, no entanto, que esses resultados são dependentes do nível de significância dos valores das estimativas.

Para o teste frio e envelhecimento acelerado (Tabelas 14 e 16), houve a mesma tendência dos resultados observados nos testes de germinação e de primeira contagem, destacando-se também as combinações 5x7 e 4x8, no teste frio. O mesmo ocorreu para os híbridos 3x7, no teste de envelhecimento acelerado, e 1x9, que apresentou a maior estimativa. Para os demais testes, não foi possível estimar o efeito recíproco para a combinação 1 x 9, embora pareça ser altamente significativa, com base nos valores médios observados nos testes em que foi possível a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de um dos híbridos. Gomes et al. (2000) não verificaram a existência de efeito maternal para tolerância ao frio em sementes de milho.

Vale ressaltar que os cruzamentos com estimativas do efeito recíproco de maiores magnitudes no teste frio o foram também no teste de envelhecimento acelerado. Bingham, Harris e McDonald (1993), citados por Camargo (2001), comprovaram que os danos provocados pelo envelhecimento acelerado em sementes de milho refletiram de forma mais acentuada sobre a taxa de crescimento de radícula e coleóptilo quando comparados à porcentagem de germinação.

Cal & Obendorf (1972) argumentaram que o efeito materno pode explicar a sensibilidade dos híbridos recíprocos aos danos por embebição ao frio e que a herança citoplasmática da mitocôndria pode explicar a relação entre o híbrido e o parental feminino em resposta ao frio, pois somente a linhagem materna pode fornecer mitocôndria e outras organelas num cruzamento. Parece haver necessidade de um sistema enzimático mitocondrial apto a tornar-se ativo quando as sementes secas são hidratadas. Nakayama et al. (1990), citados por Burris & Madden (1993), comentaram que a taxa respiratória, após completa hidratação das sementes, parece depender de um contínuo desenvolvimento da mitocôndria, devido inicialmente à importação e organização de proteínas pré-existentes no citoplasma. No entanto, outras características, como estrutura e espessura do pericarpo e pressão osmótica do endosperma, podem influenciar na taxa de secagem das sementes e, conseqüentemente, na tolerância aos danos por secagem (Burris & Navratil, 1980 e Purde & Crane, 1967).

No teste de condutividade elétrica (Tabela 17), a combinação 4x10 apresentou estimativa do efeito recíproco elevado, como nos demais testes, no entanto as combinações que se destacaram foram as 2x8, 1x8, 5x12 e 3x11. Isso implica que o aumento da permeabilidade das membranas é um dos danos ocasionados pelo processo de secagem (Herter & Burris (1989b).

A injúria às membranas, avaliada pelo teste de condutividade elétrica, tem maior importância ou não, dependendo do genótipo avaliado. Pesquisas têm sido conduzidas com o intuito de estudar mecanismos que contribuam para o controle de lixiviados pelas membranas, como a realizada por Burris et al. (1997), que detectaram a presença de corpos lipídicos alinhados adjacentes à parede celular da radícula de sementes de milho.

Verifica-se que as combinações 3x8 e 1x11, que apresentaram uma das maiores magnitudes para as estimativas do efeito recíproco nos demais testes, não foram significativas para o teste de condutividade. O mesmo ocorreu para a

combinação 2 x 8, para a qual o efeito recíproco foi bastante expressivo no teste de condutividade elétrica. Ao analisar a combinação 2 x 8 quanto à estimativa da CEC, verificou-se que esta foi uma das melhores combinações para todos os testes, com exceção da condutividade elétrica, pressupondo que os valores elevados de condutividade não afetaram o desempenho nos demais testes determinantes da qualidade fisiológica das sementes. É importante mencionar que os princípios dos testes são diferentes e determinados aspectos de vigor das sementes podem ser detectados por alguns testes e não por outros, como comentado por Roveri-José (1999).

Baixa relação entre o vigor híbrido e a condutividade elétrica foi constatada por Von Pinho (1995) e Gomes et al. (2000) em sementes de milho. Burris et al. (1997) observaram que apesar de a secagem de sementes de milho em espigas a 45°C resultar em aumento na condutividade, esta injúria foi muito menor e não pode ser associada com as mesmas fontes de eletrólitos dos materiais secados rapidamente, em que severos danos de membranas ocorrem. Outros fatores como a integridade do pericarpo, podem afetar a condutividade elétrica dos exudatos liberados pela sementes de milho, como comentado por Herter & Burris (1989a).

Pela presente pesquisa, foi possível inferir sobre os tipos e as importâncias relativas dos efeitos gênicos que atuam na determinação da tolerância a alta temperatura de secagem, o que orienta na seleção de progenitores para a produção de sementes híbridas de milho.

A significância das capacidades geral e específica de combinação indica a presença de genes de efeitos aditivos e não aditivos no controle genético para a tolerância a alta temperatura de secagem.

Com base nos resultados da capacidade combinatória, é possível escolher os parentais envolvidos nos cruzamentos, sobretudo quando se deseja

desenvolver linhagens superiores e identificar híbridos superiores, tolerantes a alta temperatura de secagem.

Quanto à sensibilidade à alta temperatura das sementes dos híbridos recíprocos, parece haver efeito materno ou extracromossômica nessa característica, conduzindo a outros mecanismos que possam estar influenciando nessa tolerância, como a herança citoplasmática, a pressão osmótica do endosperma e as características físicas do pericarpo, um tecido de origem materna.

6 CONCLUSÕES

Os efeitos significativos das capacidades geral e específica de combinação sugerem a presença de efeitos gênicos aditivos e não aditivos para a tolerância a alta temperatura de secagem.

Há predominância do efeito recíproco para a tolerância a alta temperatura de secagem.

A tolerância a alta temperatura de secagem pode ser explicada pelo efeito materno.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BDLIYA, P. M.; BURRIS, J. S. Diallel analysis of tolerance of drying injury in seed corn. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 6, p. 935-938, Nov./Dec. 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BURRIS, J. S.; MADDEN, R. F. Early germination physiology in maize embryos damaged by high temperature desiccation. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology, 4., 1992, Angers, France. **Proceedings....** Angers, France, 1993. v. 2, p. 491-496.

BURRIS, J. S.; NAVRATIL, R. J. Drying high-moisture seed corn. **Proceedings Annual Corn Sorghum Research Congress**, Dordrecht, v. 35, p. 116-132, 1980.

BURRIS, J. S.; PETERSON, J. M.; PERDOMO. Morphological and physiological changes associated with desiccation in maize embryos. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology, 5., 1995, Reading. **Proceedings...** Reading: University of Reading, 1997. p. 103-111.

CAL, J. P.; OBENDORF, R. L. Imbibitional chilling injury in *Zea Mays* L. altered by initial kernel moisture and maternal parent. **Crop Science**, Madison, v. 12, n. 3, p. 369-373, May/June 1972.

CAMARGO, R de. **Aspectos bioquímicos da deterioração de sementes**. Lavras: UFLA, 2001. 52 p. Monografia

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, L. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. D. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390 p.

DEHGHANPOUR, Z.; EHDAIE, B.; MOGHADDAM, M. Diallel analysis of agronomic characters in white endosperm corn. **Journal of Genetic of Breeding**, Rome, v. 50, n. 4, p. 357-365, Dec. 1996.

DIAS, M. C. L. de; BARROS, A. S. do R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1995. 41 p. (IAPAR. Circular, 88).

FERREIRA, A. D. F. Weighted restricted models: a new insight on sums of squares and hypothesis testing. **Revista Brasileira de Matemática e Estatística**, Jaboticabal, v. 19, p. 9-19, 2001.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e resumos....** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GOMES, M. de S.; VON PINHO, E. V. de R.; VON PINHO, R. G.; VIEIRA, M. das G. G. C. Efeito da heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 7-17, 2000.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 9, p. 462-493, 1956

GUISCHEM, J. M.; NAKAGAWA, J.; ZUCARELI, C. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce BR 400 (*bt*) em função do teor de água na colheita e da temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 220-228, 2002.

HALLAUER, S. R.; MIRANDA FILHO, J. B. Quantitative genetics in maize breeding. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HAS-V. Genetic analysis of some yield components and kernel quality in sweet corn. **Romanian Agricultural Research**, Bucuresti, n. 11-12, p. 9-15, 1999.

HERTER, U.; BURRIS, J. S. Effect of drying rate and temperature on drying injury of corn seed. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, n. 3, p. 763-774, July 1989a.

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

IBRAHIM, A. M. H.; QUICK, J. S. Genetic control of high temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermal stability. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 5, p. 1405-1407, Sept./Oct. 2001.

KOLLIPARA, K. P.; SAAB, I. N.; WYCH, R. D.; LAUER, M. J.; SINGLETARY, G. W. Expression profiling of reciprocal maize hybrids divergent for cold germination and desiccation tolerance. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 3, p. 974-992, July 2002.

LOPES, M. A.; GAMA, E. E. G.; VIANNA, R. T.; SOUZA, I. R. P. Heterose e capacidade de combinação para produção de espigas em cruzamentos dialélicos de seis variedades de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 349-354, mar. 1985.

MADDEN, R. F.; BURRIS, J. S. Respiration and mitochondrial characteristics of imbibing maize embryos damaged by high temperatures during desiccation. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 6, p. 1661-1667, Nov./Dec. 1995.

MARCOS – FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, S. M.; SILVA, W. R. da. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: ESALQ, 1987. 230 p.

NAVRATIL, R. J. **The effect of drying temperature on corn seed quality**. 1981. Dissertation (PhD.) - Iowa State University, Ames, Iowa.

NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. Small-scale dryer designer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 2, p. 159-161, Mar./Apr. 1982.

PURDY, J. L.; CRANE, P. L. Influence of pericarp on differential drying rate in “mature” corn. (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 7, n. 4, p. 379-381, July/Aug. 1967a.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na Agropecuária**. São Paulo: Globo; Lavras: FAEPE, 1990. 359 p.

ROMANO-FILHO, M. L.; PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; LILGE, C. . Alta temperatura de secagem na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 7, n. 1/2, p. 60, 1997.

ROSA, S. D. V. F. da; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; VEIGA, R. D. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 54-63, 2000.

ROVERI-JOSÉ, S. C. B. **Condicionamento osmótico de sementes de pimentão: efeito na germinação, vigor e atividade enzimática**. 1999. 107 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAS Institute. **SAS language and procedures: Usage**. Version 6. Cary NC: SAS Institute, 1995. 373 p.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 3, p. 923-932, Mar. 1942.

VON PINHO, É. V. R. **Conseqüências da autofecundação indesejável na produção de sementes híbridas de milho.** 1995. 130 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

WRICKE, G.; WEBER, W. E. **Quantitative genetics and selection in plant breeding.** Berlin: Walter de Gruyter, 1986. 406 p.

ZHANG, Y.; KANG, M. S.; MAGARI, R. A diallel analysis of ear moisture loss rate in maize. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1140-1144, Sept./Oct. 1996.

CAPÍTULO 4

1 RESUMO

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Tolerância de sementes de milho a alta temperatura de secagem: aspectos bioquímicos e anatômicos.** 2003. Cap. 4. Tese (Tese-Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

Vários mecanismos têm sido envolvidos na aquisição e manutenção da tolerância à dessecação. A ausência ou inefetiva expressão de um ou mais desses mecanismos determinam o grau relativo de sensibilidade à dessecação. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar aspectos bioquímicos, como a atividade da enzima α -amilase e padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor, bem como aspectos anatômicos do pericarpo das sementes, que pudessem estar associados com a tolerância a alta temperatura de secagem. Foram utilizadas sementes de linhagens produzidas na safra 1999/00, classificadas como tolerantes e intolerantes a alta temperatura de secagem, e sementes dos híbridos que apresentaram efeito recíproco significativo, produzidas na safra 2000/01. As sementes foram colhidas com teor de água de aproximadamente 35% e secadas a 45°C. Sementes secadas à sombra foram utilizadas como testemunha na safra 1999/00. A enzima α -amilase foi extraída de sementes germinadas de cada material em tampão Tris-HCl 0,2 M e as proteínas resistentes ao calor, de eixos embrionários das sementes, na presença do tampão Tris HCl 0,05 M. Sementes que apresentaram qualidade fisiológica superior, avaliada pelo teste de germinação, também apresentaram maior intensidade de banda para a enzima α -amilase. Uma maior concentração de frações de proteínas resistentes ao calor, de peso molecular entre 18,5 e 44,1 kDa, foi verificada nas sementes das linhagens tolerantes. Os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor foram semelhantes entre as sementes híbridas que apresentaram efeito recíproco significativo. Diferenças na tolerância das sementes a alta temperatura de secagem foram relacionadas às características físicas do pericarpo. Sementes de linhagens e híbridas que apresentaram estrutura do pericarpo mais densa, formada por células mais compactadas, foram mais sensíveis a alta temperatura de secagem.

* Comitê Orientador: Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ROVERI JOSÉ, Solange Carvalho Barrios. **Tolerance of corn seeds to high drying temperature: biochemical and anatomical aspects**. 2003. Chap. 4. Thesis (Doctorate in Plant Science). Federal University of Lavras, Lavras.

Several mechanisms have been involved in the acquisition and maintenance of desiccation tolerance. The absence or ineffective expression of one or more of these mechanisms determines the relative degree of sensitivity to desiccation. The objective of this research was to evaluate the biochemical aspects, as the α -amylase's activity and the electrophoretic patterns of the heat resistant proteins, and also the anatomical aspects of the seed pericarp, that could be associated with the high drying temperature tolerance. Seeds from lines, produced in 1999/00, classified as tolerant and intolerant to high drying temperature, and seeds from hybrids which present significant reciprocal effect, produced in 2000/01, were used. The seeds were harvested with 35% water content and dried at 45°C. Seeds dried under shadow were utilized as control in 1999/00. The α -amylase enzyme was extracted from germinated seeds from each material in TRIS – HCl 0,2 M buffer, and the heat resistant proteins, of the embryonic axes, in TRIS – HCl 0,05 M buffer. Seeds that presented superior physiological quality, evaluated by the germination test, also presented greater band intensity for the α -amylase enzyme. A higher concentration of heat resistant proteins, of molecular weight between 18,5 and 44,1 kDa was verified, in seeds from the tolerant lines. The electrophoretic patterns of the heat resistant proteins were similar amid the hybrid seeds which presented significant reciprocal effect. Differences in seed tolerance to high drying temperature were related to the physical characteristics of the pericarp. Seeds from lines and hybrids that presented denser pericarp structure, formed by more compact cells, were more sensitive to high drying temperature.

* Guidance Committee: Dr. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Major Professor), Dr. Renzo Garcia Von Pinho – UFLA e Dr. Magno Antônio Patto Ramalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A remoção de água das sementes pode causar alterações químicas, físicas e fisiológicas nas sementes, o que torna o processo de secagem uma etapa crítica do processo de produção de sementes.

A causa primária do dano produzido por altas temperaturas tem sido a desintegração do sistema de membranas celulares. Além disso, altas temperaturas de secagem podem diminuir a solubilidade e a capacidade de ligação das proteínas (Wall et al., 1975, citado por Peplinski et al., 1994), causar injúria tanto na estrutura da mitocôndria, refletindo na taxa respiratória (Burriss et al. 1997), como em outros sistemas subcelulares.

Sementes tolerantes a alta temperatura de secagem devem apresentar mecanismos que confirmam proteção contra os danos provocados pela perda de água. Sementes que toleram a dessecação dispõem de alguns mecanismos de proteção capazes de manter os sistemas de membranas das células, as estruturas das macromoléculas e as substâncias de reserva em condições de readquir suas funções fisiológicas quando as sementes são reembebedas. O desenvolvimento desses mecanismos depende de características genéticas da espécie. A ausência ou inefetiva expressão de um ou mais desses mecanismos determinam o grau relativo de sensibilidade à dessecação (Pammenter & Berjak, 1999).

Importantes mudanças metabólicas e bioquímicas envolvidas na prevenção de injúrias causadas por alta temperatura de secagem têm sido estudadas em sementes de milho (Perdomo & Burriss, 1998; Seyedin et al. 1984 e Rosa et al., 2000), como a eficiência da taxa respiratória, a atividade da enzima α -amilase e a degradação de grãos de amido. Mudanças morfológicas também têm sido estudadas, como a migração de corpos lipídicos dentro das células e a formação de corpos protéicos dentro dos vacúolos. Em sementes tolerantes a alta

temperatura de secagem, os constituintes celulares estão protegidos ou podem ser reparados.

Um dos mecanismos mais estudados na adaptação dos organismos a condição de estresse é a indução das proteínas resistentes ao calor (Heat Shock Proteins (HSP)). Essas proteínas resistentes ao calor têm sido associadas com a tolerância à dessecação das sementes (Kigel & Galili, 1995), amenizando problemas causados pela agregação e má estruturação de proteínas (Queitsch et al. 2000).

Características morfológicas como a espessura e estrutura do pericarpo também têm sido relacionadas com a qualidade das sementes após secagem artificial. Burris & Navratil (1980) constataram que sementes de genótipos de milho tolerantes a alta temperatura de secagem apresentaram maior taxa de secagem. Os autores sugeriram que genótipos tolerantes podem ser capazes de dissipar água a uma maior taxa que os tipos intolerantes. Diferenças na taxa de secagem entre sementes de milho têm sido relacionadas às características físicas do pericarpo.

Desse modo, seria oportuno verificar possíveis modificações na atividade da enzima α -amilase, nos padrões das proteínas resistentes ao calor e na morfologia do pericarpo que poderiam estar associadas na prevenção da injúria às sementes ocasionada pela secagem a alta temperatura.

Assim, o objetivo desta pesquisa foi o de avaliar parâmetros bioquímicos e anatômicos que pudessem estar associados com a tolerância a alta temperatura de secagem.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes produzidas nas safras 1999/00 e 2000/01 foram utilizadas neste experimento. Inicialmente foi instalado, em novembro de 1999, um campo

de multiplicação de linhagens, provenientes da empresa Geneseeds – Recursos Genéticos em Milho Ltda. Na época de florescimento as espigas foram protegidas com sacos plásticos, antes da emissão dos estilo-estigmas, para evitar cruzamentos indesejáveis, e posteriormente foram realizadas as autofecundações. Durante o desenvolvimento das sementes, foi feito um acompanhamento da solidificação do endosperma por meio da linha de leite e as espigas foram amostradas para determinação do teor de água, utilizando-se o método da estufa a 130°C, por 4 horas, conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), até que o teor de água das mesmas atingisse aproximadamente 35%, momento este em que foi realizada a colheita.

As espigas, correspondentes a cada linhagem, foram colhidas e despalhadas manualmente e em seguida submetidas à secagem artificial a 45°C até as sementes atingirem o conteúdo de água de aproximadamente 11%. Para a secagem das espigas, foram utilizados secadores experimentais de pequena escala, construídos de acordo com Navratil & Burris (1982). As espigas foram debulhadas manualmente e as sementes, retidas na peneira 16 de crivo circular foram tratadas com os fungicidas Tecto 600[®] e Captan[®], nas doses de 40g e 120g do produto comercial por 100Kg de sementes, respectivamente. Por meio dos testes de germinação e vigor, as linhagens foram classificadas em tolerantes e intolerantes a alta temperatura de secagem, como descrito no capítulo 2. Sementes colhidas com 35% e 18% de teor de água e secadas à sombra foram utilizadas como testemunha para as avaliações das proteínas resistentes ao calor e da enzima α -amilase, respectivamente.

A partir do grupo das seis linhagens tolerantes e do grupo das seis intolerantes a alta temperatura de secagem, foram obtidos híbridos simples de milho, incluindo os recíprocos, utilizando-se o sistema de cruzamento dialelo parcial, mais as linhagens parentais. A semeadura, realizada em novembro de 2000, foi conduzida em três épocas distintas para garantir a coincidência no

florescimento entre os parentais. A metodologia de produção, colheita e secagem das sementes foi a mesma citada anteriormente. As sementes foram secadas até atingirem um teor de água em torno de 8%.

Com base nas estimativas dos efeitos recíprocos obtidas no experimento do capítulo 3, foram selecionadas sementes provenientes dos cruzamentos 7/5, 9/6, 8/6, 3/8, 11/1, 4/8, 8/4, 4/10, 1/7, 2/7, 1/9 e respectivos recíprocos. Essas combinações apresentaram efeito recíproco bastante significativo.

As análises foram realizadas nos Laboratórios de Análise de Sementes, de Técnicas Moleculares e Patologia de Sementes da UFLA e no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Brasília, UnB.

4.1 Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido com 50 sementes por repetição, que foram semeadas entre papel toalha tipo Germitest umedecido com água destilada na proporção de 2,5 mL:1 g de papel. As sementes permaneceram no germinador regulado para 25°C e as avaliações foram realizadas segundo recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

4.2 Avaliações bioquímicas

Foram realizados pré-testes para definir a metodologia de extração da enzima α -amilase. Para isso, sementes de milho foram germinadas por setenta horas. A partir desse período foram utilizadas, para a extração da enzima, somente a plúmula, sementes germinadas e excluídas da plúmula e raízes e sementes germinadas com plúmula e raízes.

Foi avaliado ainda o número de sementes a ser utilizado na análise da enzima α -amilase. Devido ao número limitado de sementes, foram utilizadas nove e vinte e cinco sementes para cada tratamento.

4.2.1 Análise eletroforética da enzima α -amilase

Com base nos resultados dos pré-testes, nove sementes de cada tratamento foram germinadas por um período de 70 horas (Rood & Larsen, 1988) para a extração da enzima α -amilase. Decorrido esse período, a plúmula e raízes das sementes foram descartadas e o restante foi triturado em mortar sobre gelo, na presença de N-líquido. Para a extração da enzima, 200 mg do pó das sementes germinadas foram ressuspensos em 600 μ l do tampão de extração (Tris-HCL 0,2 M, pH 8,0 + 0,4% de PVP) e estas amostras permaneceram em geladeira ($\pm 5^{\circ}\text{C}$), incubadas no gelo por um período de aproximadamente 12 horas. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 16000 x g por 60 minutos a 4°C . Quarenta microlitros do sobrenadante de cada tratamento foram aplicados em géis de poliacrilamida a 4,5% (gel concentrador) e 7,5% (gel separador contendo 5% de amido solúvel) e a corrida eletroforética foi realizada a 75 V, durante uma hora, no gel concentrador, e a 150V, por 3:30 horas, no separador, utilizando-se, para o sistema tampão gel eletrodo, uma solução de Tris-glicina pH 8,9. A revelação para detecção da atividade da enzima foi conduzida segundo metodologia descrita por Alfenas et al. (1991).

4.2.2 Proteínas resistentes ao calor

Sementes correspondentes a cada tratamento foram embebidas durante cinco horas, para a extração dos eixos embrionários, os quais foram colocados em microtubos e mantidos a -86°C . No momento da extração das proteínas, 11

eixos embrionários, previamente pesados, foram moídos em mortar sobre gelo, na presença de solução tampão (50 mM Tris-HCL-7,5; 500 mM NaCl; 5 mM MgCl₂; 1mM PMSF) na proporção de 1:10 (peso do material: volume do tampão de extração) e transferidos para microtubos de capacidade de 1500 µL. O homogeneizado foi centrifugado a 16000 x g por 30 minutos, a 4°C, e o sobrenadante foi incubado em banho-Maria a 85°C por 15 minutos e novamente centrifugado como citado acima. O sobrenadante foi vertido em microtubos e o pellet, descartado. Antes da aplicação no gel, os tubos de amostras contendo 70µL de extrato + 40µL de solução tampão da amostra (2,5 mL de glicerol; 0,46 g de SDS; 20 mg de azul de Bromofenol e completado o volume para 20 mL de tampão de extração Tris pH7,5) foram colocados em banho-maria com água em ebulição por 5 minutos. Foram aplicados 50 µL do extrato + tampão da amostra por canaleta, em gel de poliacrilamida SDS-PAGE a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). A corrida eletroforética foi realizada a 150 V, os géis, corados em Coomassie Blue a 0,05% conforme Alfenas et al. (1991), durante 12 horas, e descorados em solução de ácido acético 10%. A razão da utilização dos eixos embrionários ao invés do embrião inteiro foi aumentar a concentração dessas proteínas, melhorando a qualidade do gel, após revelação.

4.3 Avaliação física do pericarpo das sementes

Para a avaliação física do pericarpo das sementes foram realizados cortes longitudinais nas sementes, rente ao embrião, em micrótomo modelo Microm HM 505 E. Seções de 20µm de espessura foram realizadas sob a temperatura de -20°C, e o corante utilizado para a confecção das lâminas foi o lacto azul algodão. Por meio de um microscópio estereoscópio modelo Nikon Fx-35A, adaptado com uma câmara fotográfica, foi obtida a imagem do pericarpo das sementes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão representados os géis revelados para a enzima α -amilase nos pré-testes. A atividade dessa enzima pode ser evidenciada pelas bandas acromáticas em fundo azulado devido à reação do iodo com a amilase, tratando-se de uma revelação negativa. Desta forma, o amido foi hidrolisado nos locais em que a enzima estava presente.

Na canaleta 1 (c1) está representado o padrão da enzima contendo somente a plúmula, na canaleta 2 (c2) estão as sementes germinadas e excluídas da plúmula e raízes e na canaleta 3 (c3), as sementes germinadas com plúmula e raízes.

Uma melhor atividade da enzima foi observada em sementes germinadas e excluídas da plúmula e raízes, evidenciando que a enzima concentra-se na camada de aleurona e endosperma.

Quanto ao número de sementes observa-se, na Figura 1 à direita, que apesar de a intensidade da banda que utiliza 25 sementes (25s) ser maior do que a de 9 sementes (9s) para o mesmo híbrido, houve uma mesma tendência entre materiais quanto à atividade da enzima.

Os padrões eletroforéticos da enzima α -amilase das sementes das linhagens produzidas na safra 1999/00 e submetidas à secagem artificial e natural estão representados nas Figuras 2 e 3. Comparando a atividade enzimática das sementes após secagem artificial verifica-se, de modo geral, maior intensidade de bandas nas sementes das linhagens de 1 a 6 classificadas como tolerantes (Figura 2), quando comparada com as das sementes intolerantes das linhagens de 7 a 12 (Figura 3). O calor excessivo pode provocar, entre outras alterações, a desnaturação de enzimas. Em sementes das linhagens classificadas como intolerantes, menor atividade enzimática pode ter influenciado nos valores

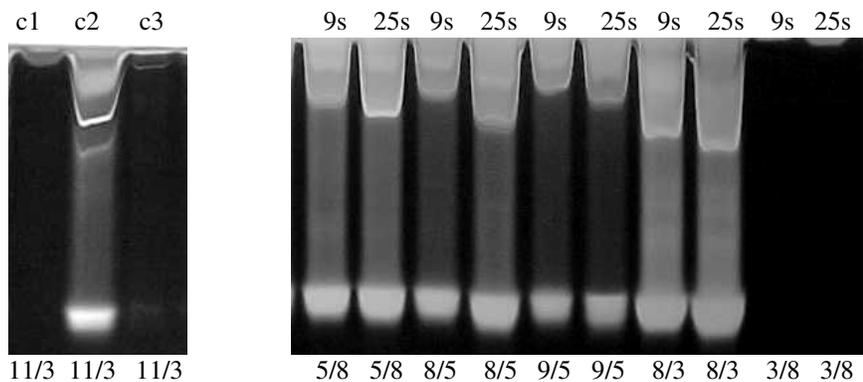


FIGURA 1 - Padrões isoenzimáticos de sementes híbridas de milho produzidas na safra 2000/01, revelados para a α -amilase. Numerais abaixo da figura representam os híbridos; c1, c2 e c3: canaletas 1, 2 e 3; s: n^o de sementes. UFLA, Lavras - MG, 2003.

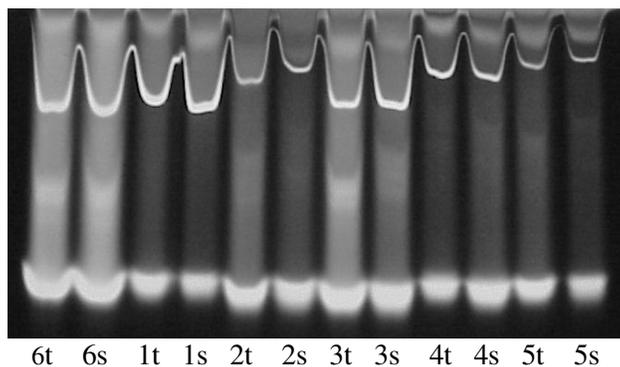


FIGURA 2 - Padrão eletroforético da enzima α -amilase de sementes de linhagens de milho produzidas na safra 1999/00 e tolerantes à alta temperatura de secagem. s: após secagem artificial; t: testemunha, sementes secadas à sombra. UFLA, Lavras - MG, 2003.

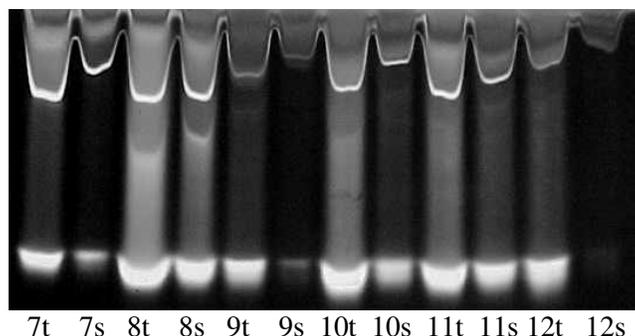


FIGURA 3 – Padrão eletroforético da enzima α -amilase de sementes de linhagens de milho produzidas na safra 1999/00 e intolerantes a alta temperatura de secagem. s: após secagem artificial; t: testemunha, sementes secadas à sombra. UFLA, Lavras – MG, 2003.

de germinação das sementes após secagem a alta temperatura, os quais foram inferiores quando comparados aos observados para as sementes de genótipos tolerantes, safra 1999/00 (Tabela 1). Desse modo, a secagem das sementes à temperatura de 45°C parece ter provocado alterações mais drásticas no metabolismo relacionado à síntese da enzima α -amilase das sementes das linhagens intolerantes.

Segundo Herter & Burris (1989), danos térmicos às sementes são caracterizados pela ruptura de ligações peptídicas de proteínas e outros componentes celulares, sendo que o início do efeito deletério, durante secagem à alta temperatura, coincidiu com o início da secagem do embrião. Rosa (2000) constatou que sementes de milho secadas em espigas a 50°C, embora tenham sofrido redução do teor de água até próximo de 12%, não apresentaram a mesma atividade enzimática daquelas que já haviam adquirido tolerância à alta temperatura de secagem. Para a mesma autora, sementes de milho colhidas com alto teor de água devem ser secadas até um teor de água de 24-25% para que ocorra a síntese da α -amilase, permitindo, assim, o início do processo

TABELA 1 - Valores médios de germinação (%) de sementes de milho produzidas nas safras 1999/00 e 2000/01 e submetidas à secagem artificial e secagem à sombra. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Linhagens	Safra 1999/00		Safra 2000/01	
	Artificial	Natural	Artificial	Natural
1	95	76	8	92
2	100	96	12	83
3	99	98	63	83
4	99	99	49	91
5	99	99	82	88
6	99	100	30	96
7	66	92	16	91
8	59	98	4	-
9	55	97	-	99
10	57	99	78	86
11	56	100	60	90
12	11	97	3	96

¹ Germinação realizada após 16 meses de armazenamento.

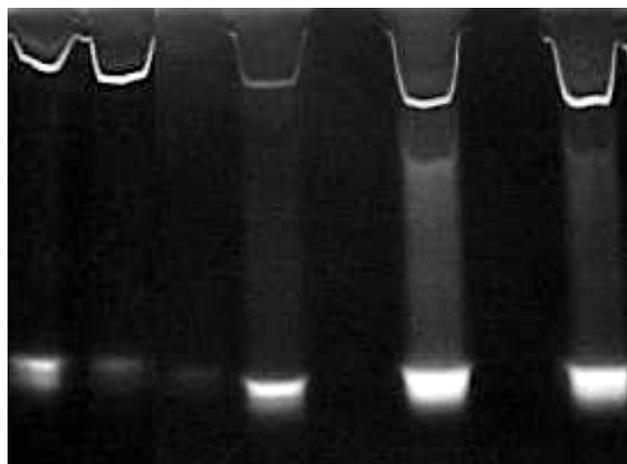
germinativo após a reidratação. Nessa pesquisa, as sementes foram secadas até um teor de água de 11%, suficiente para sensibilizar a camada de aleurona ao hormônio GA₃ e ativar a síntese da α -amilase.

Para as linhagens consideradas tolerantes à alta temperatura de secagem (Figura 2), praticamente não houve diferenças na atividade da enzima nas sementes secadas à sombra e artificialmente, o que já não ocorreu para as linhagens não tolerantes (Figura 3), para as quais maior intensidade de banda, ou seja, maior atividade foi verificada para as sementes da testemunha. Os danos ocasionados pela alta temperatura de secagem nas sementes das linhagens intolerantes podem ter afetado a solubilidade das enzimas, reduzindo sua atividade, como mencionado por Wall et al. (1975), citados por Peplinski et al. (1994). Provavelmente isso não ocorreu nas sementes tolerantes porque estas apresentam algum mecanismo de proteção contra os danos causados por uma

rápida perda de água. Importantes mudanças morfológicas na prevenção de injúrias causadas por alta temperatura de secagem foram constatadas por Perdomo & Burris (1998). Os autores observaram a migração dos corpos lipídicos para a parede celular das células meristemáticas da raiz e a formação dos corpos protéicos dentro dos vacúolos durante o pré-condicionamento de sementes de milho. Essas mudanças foram mais evidentes nos tratamentos que permitiram uma maior taxa de secagem. Mudanças metabólicas e bioquímicas também foram verificadas. Elevada atividade da enzima α -amilase foi observada nas sementes pré-condicionadas a 35°C e a 90% de umidade relativa, sendo que nesse tratamento foi observado degradação de grãos de amido na base do escutelo, adjacente ao meristema radicular. As taxas respiratórias foram significativamente maiores em sementes cujos tratamentos de pré-condicionamento envolveram a temperatura de 35°C do que a de 20°C.

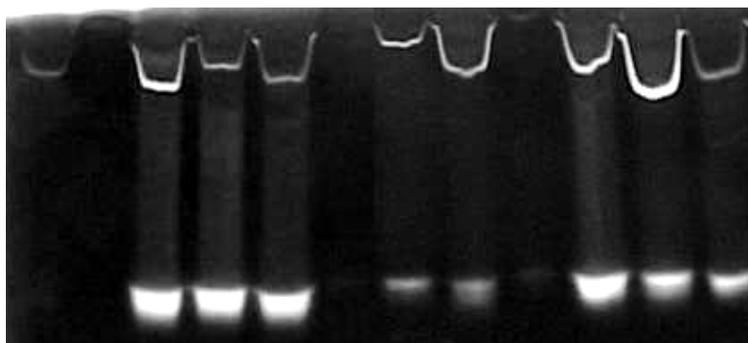
Nas Figuras 4 e 5 estão apresentados os padrões observados para a enzima α -amilase em sementes de alguns híbridos F₁'s para os quais o efeito recíproco foi bastante significativo nos testes de germinação. A designação 1/11, por exemplo, refere-se à linhagem 1 como genitor masculino e à linhagem 11, como feminino. Na Figura 6 estão representados os perfis isoenzimáticos das 12 linhagens utilizadas no dialelo parcial.

Tem sido relatada a expressão da heterose na qualidade das sementes (Gomes et al. 2000), bem como ligação entre as giberelinas e a heterose no controle da síntese da α -amilase e subsequente hidrólise das reservas em sementes de milho (Paleg, 1965). No entanto, na presente pesquisa foram verificadas diferenças na atividade da enzima amilase entre as sementes híbridas e as do respectivo recíproco (Figuras 4 e 5). Isso sugere que existem outros fatores além de genes nucleares que estão afetando o comportamento dessas sementes híbridas com relação à atividade dessa enzima, uma vez que o genoma



7/5 5/7 9/6 6/9 8/6 6/8 3/8 8/3

FIGURA 4 - Padrão eletroforético da enzima α -amilase de sementes híbridas de milho e seus recíprocos, produzidas na safra 2000/01 e submetidas a alta temperatura de secagem. UFLA, Lavras – MG, 2003.



11/1 1/11 4/8 8/4 4/10 10/4 1/7 7/1 2/7 7/2 1/9 9/1

FIGURA 5 – Padrão eletroforético da enzima α -amilase de sementes híbridas de milho e seus recíprocos, produzidas na safra 2000/01 e submetidas a alta temperatura de secagem. UFLA, Lavras – MG, 2003.

nuclear é o mesmo para os híbridos e seus respectivos recíprocos. Lopes & Lakins (1993) comentaram que após a polinização ocorre um aumento na quantidade de DNA do endosperma como estratégia para aumentar os produtos resultantes da expressão dos genes envolvidos na biossíntese de enzimas. Essa quantidade, segundo os autores, é variável em função da linhagem avaliada.

Para as combinações originadas de pais bem contrastantes, para a intensidade da banda da enzima α -amilase, geralmente foi observado padrão semelhante ao do parental feminino, como observado nas combinações envolvendo as linhagens 6 com 9; 3 com 8; 4 com 10; 2 com 7 e 1 com 9 (Figuras 4, 5 e 6). O zigoto que dará origem ao híbrido possui 50% da informação dos cromossomos de origem paterna e 50% de origem materna. Já no endosperma, 66,6% dos cromossomos são de origem materna e 33,3%, paterna (Veit et al., 1993). No entanto, Groszmann & Sprague (1948), comparando a taxa de crescimento das diferentes partes de sementes de milho, constataram que a heterose não pode ser atribuída ao balanço do conjunto cromossômico proveniente do genitor feminino e masculino, mas sim à ação de genes específicos.

Sabe-se que a camada de aleurona é um tecido digestivo, especializado na secreção de enzimas mobilizadoras de reserva do endosperma, incluindo a α -amilase, e sua atividade inicia na presença de ácido giberélico, secretado pelo embrião durante a germinação (McCarty & Carse, 1991). Segundo Golovina et al. (2000), as células da camada de aleurona são tolerantes à dessecação sob condições de secagem lenta ou durante diferenciação das células do endosperma em células da camada de aleurona. Na presente pesquisa, as sementes que foram secadas à sombra, caracterizando portanto uma secagem lenta, apresentaram valores elevados de germinação. Isso demonstra que as diferenças observadas quanto à susceptibilidade aos danos por secagem a alta temperatura foi dependente da linhagem em questão.

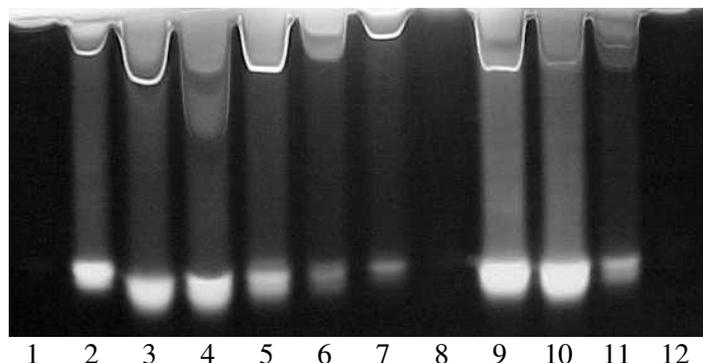


FIGURA 6 – Padrão eletroforético da enzima α -amilase de sementes de linhagens de milho produzidas na safra 2000/01 e submetidas a alta temperatura de secagem. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Os danos causados pela alta temperatura de secagem às sementes parecem ter afetado a síntese da α -amilase, uma vez que sementes híbridas com baixa atividade enzimática, a exemplo do 5/7, 9/6, 8/6, 3/8, 1/11, 8/4, 10/4, 1/7, 2/7 e 9/1 (Figuras 4 e 5), também apresentaram baixos valores de germinação (Tabela 2). Ramos & Carneiro (1991) observaram decréscimo na quantidade de amido, principal componente das sementes de pinheiro, com o aumento do tempo de envelhecimento. A diminuição da qualidade dessas sementes foi associada a várias alterações bioquímicas, como o catabolismo das reservas armazenadas e mudanças na atividade da enzima α -amilase.

No entanto, alterações no conteúdo de carboidratos, provocadas pela condição extremamente estressante de uma secagem rápida, também podem ter ocorrido, provocando uma respiração mais intensa, reduzindo, assim, a quantidade de amido. Seyedin et al. (1984) afirmaram que temperaturas elevadas de secagem podem causar hidrólise do amido no eixo embrionário de sementes de milho. Tanto a instabilidade térmica do complexo enzimático da respiração

como uma limitação na quantidade de substrato disponível no citoplasma podem prejudicar, segundo Madden & Burris (1995), a atividade respiratória durante os estágios iniciais da germinação.

TABELA 2. Valores médios de germinação de sementes híbridas de milho submetidas a secagem artificial. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Híbridos	Germinação (%)
7/5	90
5/7	68
9/6	40
6/9	95
8/6	13
6/8	82
3/8	1
8/3	90
11/1	60
1/11	0
4/8	96
8/4	59
4/10	92
10/4	45
1/7	40
7/1	92
2/7	33
7/2	86
1/9	97
9/1	-

Os padrões da enzima α -amilase das sementes das linhagens produzidas na safra 2000/01 se encontram na Figura 6. Observa-se maior atividade da mesma para as linhagens 9, 10, 3 e 5, que coincidentemente apresentaram uma maior porcentagem de germinação (Tabela 1). As demais linhagens foram mais sensíveis à secagem a alta temperatura, como pode ser observado pela menor intensidade de banda da enzima, refletindo na capacidade germinativa das mesmas. Peplinsk et al. (1994) observaram perda das proteínas classificadas como albuminas, nas quais se encontra a α -amilase, com o aumento da temperatura de secagem de sementes de milho. No entanto, nenhuma mudança no gel de prolaminas, que são proteínas de reservas, como a zeína em milho, foi constatada, sugerindo que essas proteínas podem não ser tão facilmente desnaturadas como as albuminas.

Baixa atividade da enzima α -amilase foi observada em sementes da linhagem 9 na safra 1999/00 (Figura 3) após secagem; na safra 2000/01 (Figura 6), a atividade foi mais elevada, demonstrando que a tolerância das sementes a alta temperatura de secagem pode estar relacionada à síntese de α -amilase, sendo influenciada pelo ambiente no qual as sementes foram produzidas.

Os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor das sementes das linhagens produzidas na safra 1999/00 e submetidas à secagem artificial e natural estão representadas nas Figuras 7 e 8. Observa-se grande acúmulo das proteínas resistentes ao calor nos eixos embrionários de sementes de milho no estado seco. Verifica-se ainda, para cada linhagem (Figuras 7 e 8), estabilidade nos padrões de banda das proteínas consideradas robustas nas sementes submetidas a secagem artificial e natural, mesmo naquelas em que houve grandes variações nos valores de germinação, a exemplo das linhagens 7 a 12, classificadas como não tolerantes na safra 1999/00 (Figura 8, Tabela 1). Isso sugere que o método de secagem não induziu mudanças no padrão protéico

dessas proteínas. Burris et al. (1997) verificaram que a proteína com peso molecular de 66 kDa da fração das proteínas resistentes ao calor foi induzida pela secagem, sendo em menor porcentagem em sementes submetidas à secagem rápida, as quais também apresentaram baixos valores de germinação.

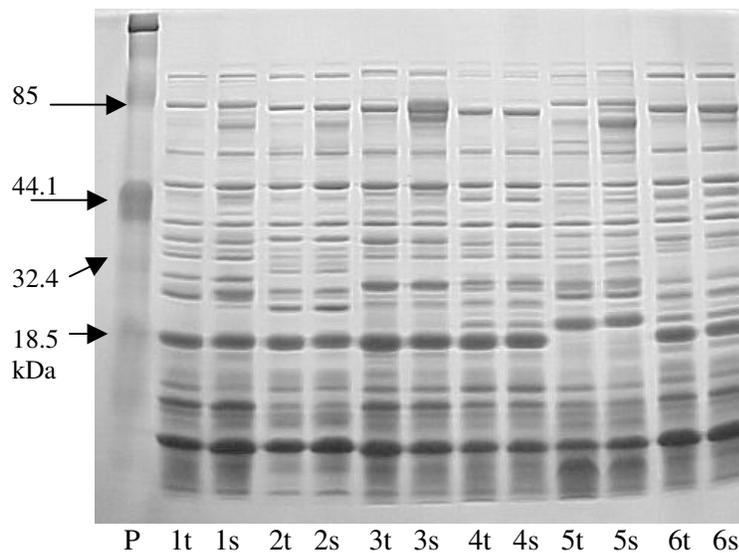


FIGURA 7 – Padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor de sementes de linhagens de milho produzidas na safra 1999/00 e tolerantes a alta temperatura de secagem. s: após secagem artificial; t: testemunha, sementes secadas à sombra. P: padrão protéico. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Foi possível observar ainda uma concentração das frações protéicas de peso molecular entre 18,5 e 44,1 kDa nas linhagem classificadas como tolerantes (Figura 7). Blackman et al. (1991) verificaram a presença de um conjunto de sete proteínas estáveis ao calor nas sementes tolerantes à dessecação, sendo três proteínas de aproximadamente 70, 64 e 25,5 kDa, e quatro com pesos variando de 32 a 40 kDa. No entanto, pelas Figuras 7 e 8 não foi possível determinar uma banda específica da fração das proteínas resistentes ao calor que possa servir

como marcador de tolerância a alta temperatura de secagem. Essas proteínas foram acumuladas em sementes das linhagens durante o processo de maturação, porém o desenvolvimento da tolerância a alta temperatura de secagem não se correlacionou com esse acúmulo. De acordo com Blackman et al. (1991), a habilidade ou falta de algum fator para expressar LEA's ou proteínas semelhantes, as deidrinas, por si só não pode ser tomada como um indicativo de que as sementes de uma espécie em particular pode ou não resistir a desidratação.

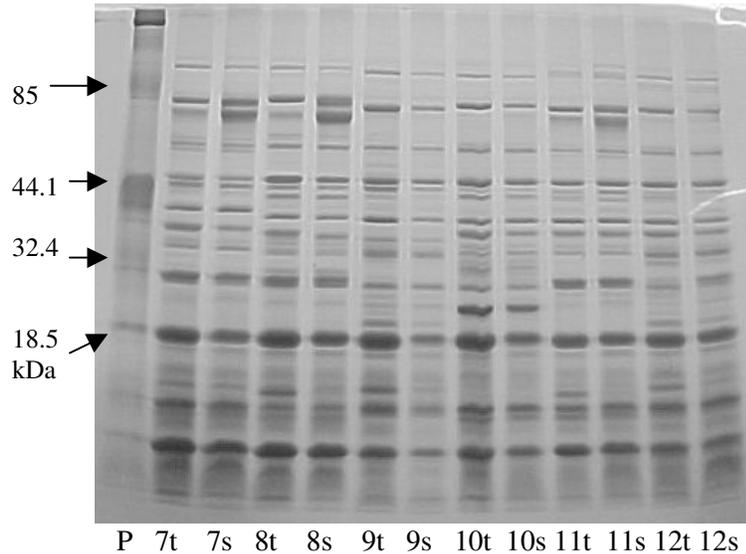


FIGURA 8 – Padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor de sementes de linhagens de milho produzidas na safra 1999/00 e intolerantes a alta temperatura de secagem. s: após secagem artificial; t: testemunha, sementes secadas à sombra. P: padrão protéico. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Nas Figuras 9 e 10 estão representados os padrões das proteínas resistentes ao calor dos recíprocos mais significativos e na Figura 11, os padrões protéicos das linhagens.

Embora tenham sido constatadas grandes diferenças quanto à qualidade fisiológica entre as sementes híbridas e de seus respectivos recíprocos, o mesmo não foi verificado para os padrões protéicos das proteínas resistentes ao calor. Kollipara et al. (2002) observaram uma expressão diferenciada de genes envolvidos na degradação protéica, tais como proteases e proteínas associadas à mobilização de proteínas para os proteosomas, bem como no perfil protéico da globulina para os recíprocos divergentes para tolerância a dessecação em embriões de sementes de milho.

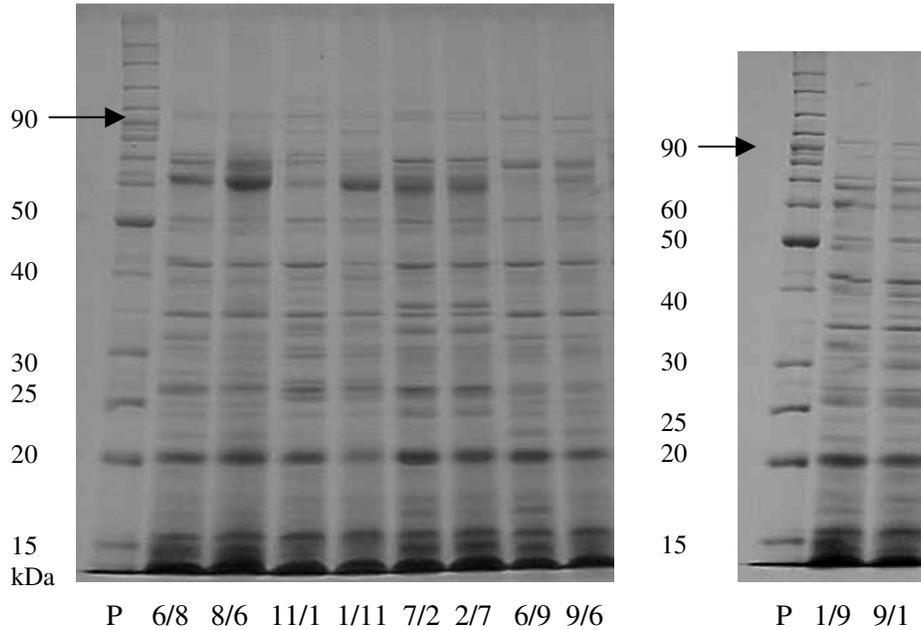


FIGURA 9 – Padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor de sementes híbridas de milho e seus recíprocos, produzidas na safra 2000/01 e submetidas a secagem artificial a alta temperatura. P: padrão protéico. UFLA, Lavras – MG, 2003.

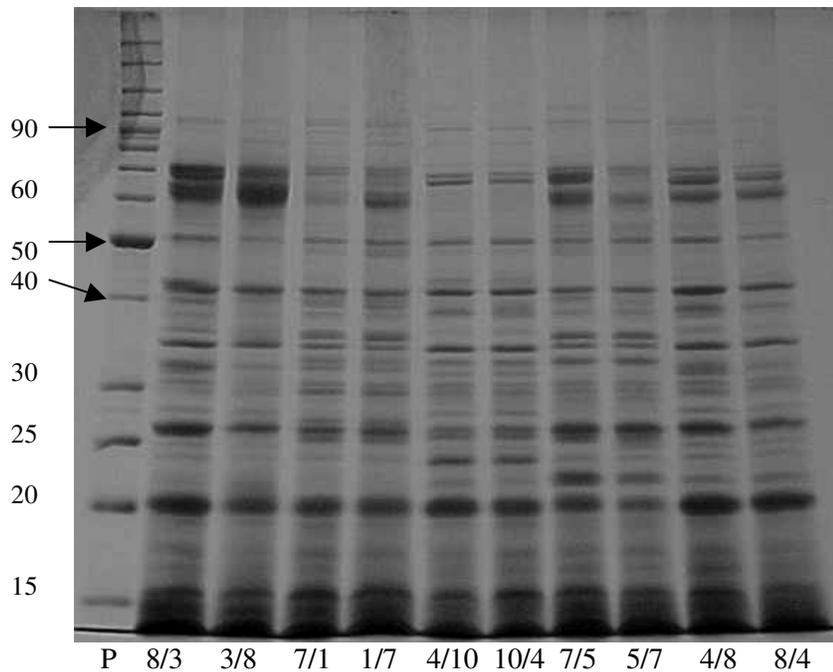


FIGURA 10 – Padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor de sementes híbridas de milho e seus recíprocos, produzidas na safra 2000/01 e submetidas a secagem artificial a alta temperatura. P: padrão protéico. UFLA, Lavras – MG, 2003.

O fato de os padrões das frações protéicas das proteínas resistentes ao calor não terem se alterado entre os híbridos e recíprocos confirma que a expressão dessas proteínas é controlada por genes presentes no núcleo. Por meio dos padrões eletroforéticos dessas proteínas extraídas de eixos embrionários, foi possível observar a distinção das linhagens de seu respectivo híbrido. Assim, pode-se visualizar na Figura 10 que a combinação 5 e 7 contém bandas provenientes da linhagem 5 e 7 (Figura 11), estendendo o mesmo raciocínio para os demais cruzamentos. A expressão da heterose foi constatada por Cross & Adams (1983) para as globulinas e por Imolesi et al. (2001) para a enzima esterase, em sementes de milho.

Vários mecanismos têm sido associados com a manutenção da tolerância a dessecação, conferindo proteção contra as conseqüências da perda de água. A presença dessas proteínas por si só não parece ser responsável pela tolerância a alta temperatura de secagem, e outros fatores devem estar influenciando nessa característica.

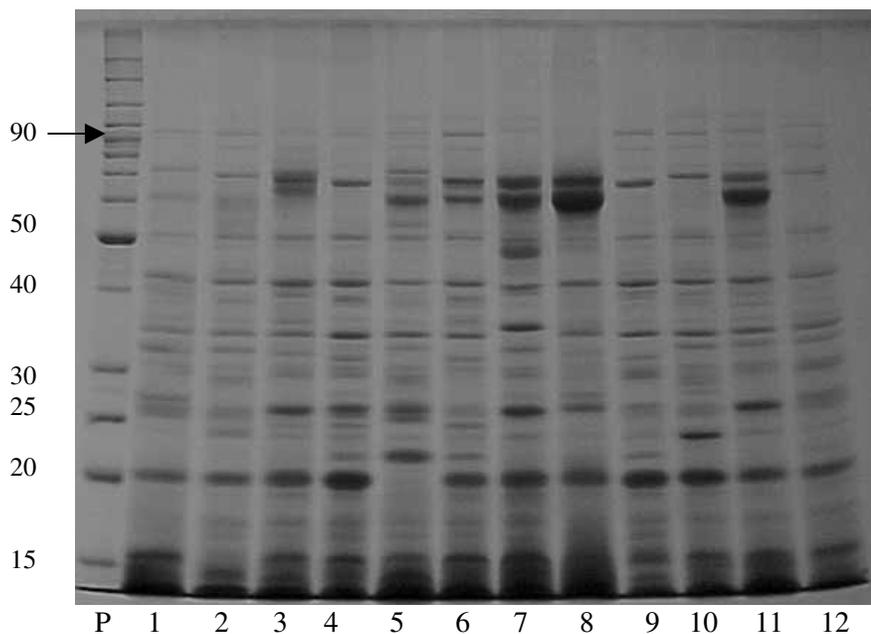


FIGURA 11 – Padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor de sementes de linhagens de milho produzidas na safra 2000/01 e submetidas a secagem artificial a alta temperatura. P: padrão protéico. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Quanto ao aspecto anatômico, as imagens dos pericarpos de sementes de alguns híbridos e recíprocos, bem como dos respectivos parentais, se encontram ilustradas nas Figuras de 12 a 18.

À direita da Figura 12 encontra-se a estrutura do pericarpo da semente do híbrido 1/11 e à esquerda, a do seu recíproco, 11/1. Observa-se que a

espessura do pericarpo não variou muito entre eles; no entanto, a estrutura do pericarpo do híbrido 1/11 é bem mais homogênea, apresentando células mais compactadas do que a de seu recíproco. Isso pode ter dificultado a perda de água das sementes, afetando negativamente a qualidade fisiológica das sementes do híbrido 1/11. A espessura e permeabilidade do pericarpo têm sido associados com a velocidade de secagem de sementes de milho, em função das diferenças existentes na absorção e perda de água pelas mesmas (Purdy & Crane, 1967). Esses autores verificaram que o pericarpo das sementes que apresentaram taxa de secagem mais lenta era mais espesso e denso, e uma maior permeabilidade dos mesmos foi associada com a secagem mais rápida.

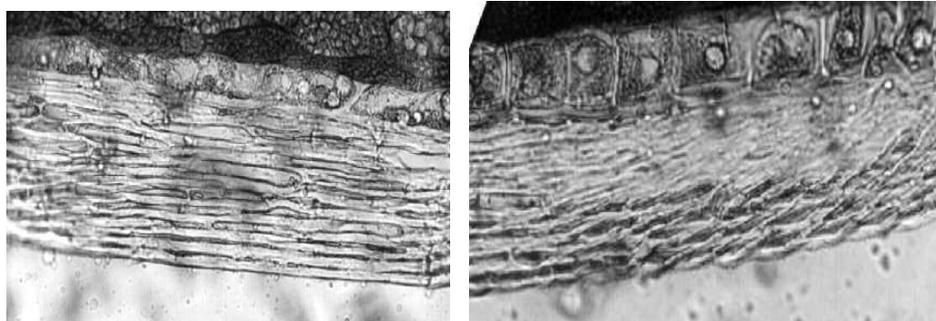


FIGURA 12 – Pericarpo da semente do híbrido 1/11 (à esquerda) e de seu recíproco 11/1 (à direita), produzidos na safra 2000/01. Magnitude 10x. Lavras – MG, 2003.

Essa variação na estrutura do pericarpo das sementes entre híbridos e recíprocos pode ser detectada nos demais cruzamentos, como o 1/7, 2/7 e 3/8 (Figuras 13, 14 e 15), os quais também apresentaram maior susceptibilidade aos danos por alta temperatura de secagem. Comparados aos pericarpos das sementes híbridas de seus recíprocos, observa-se uma estrutura bastante diferenciada desses. As células que constituem seus pericarpos são bem mais compactadas, fechadas, pouco vacuoladas, dificultando a perda de água pelas

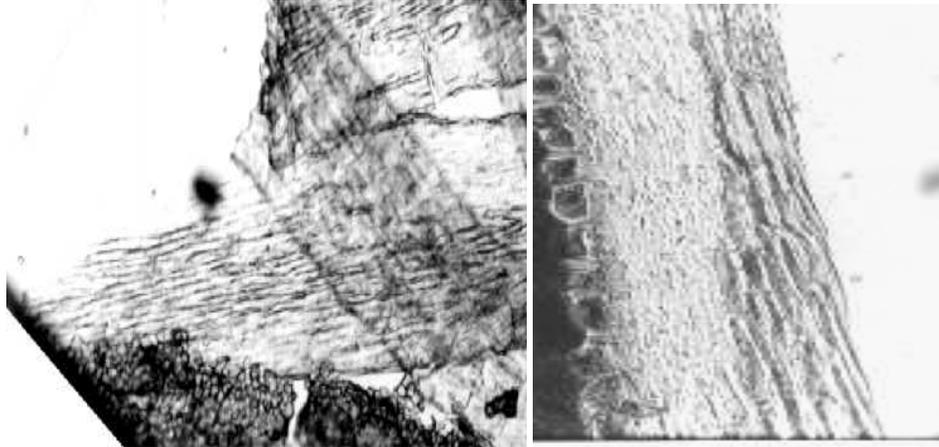


FIGURA 13 – Pericarpo do híbrido 1/7 (à esquerda) e de seu recíproco 7/1 (magnitude 10x, à direita) produzidos na safra 2000/01. UFLA, Lavras – MG, 2003.

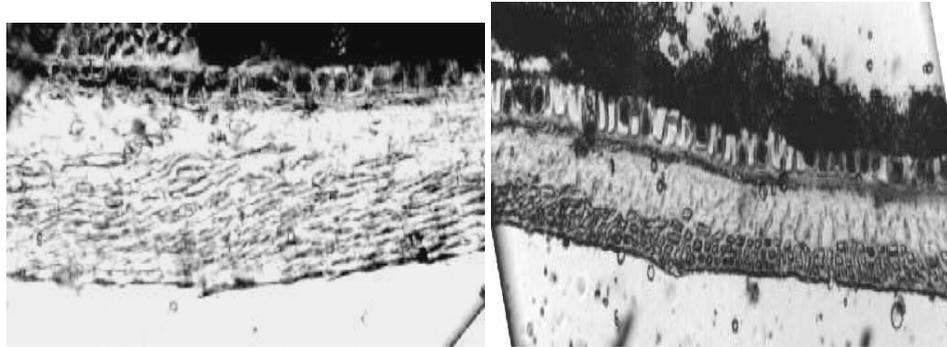


FIGURA 14 – Pericarpo do híbrido 2/7 (à esquerda) e de seu recíproco 7/2 (à direita), produzidos na safra 2000/01. Magnitude 4x. UFLA, Lavras – MG, 2003.

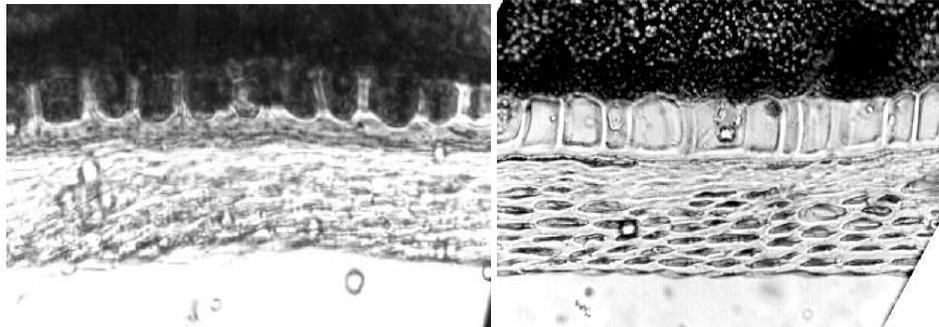


FIGURA 15 – Pericarpo do híbrido 3/8 (à esquerda) e de seu recíproco 8/3 (à direita), produzidos na safra 2000/01. Magnitude 10x. UFLA, Lavras – MG, 2003.

sementes. Tracy & Galinat (1987), observaram que a espessura e densidade das paredes das células no pericarpo podem afetar o grau de compactação, sendo variável entre os fenótipos de milho estudados.

De acordo com Navratil & Burris (1984), sementes de linhagens de milho que apresentaram taxa de secagem elevada, foram mais tolerantes aos danos por secagem, devido à exposição das mesmas, com conteúdo de água elevado à altas temperaturas, por períodos mais curtos. Na presente pesquisa, a estrutura mais compactada das células do pericarpo das sementes dos híbridos 1/7, 2/7, 3/8 e 1/11 pode ter dificultado a dissipação da água das sementes, contribuindo para uma baixa qualidade fisiológica dessas sementes após secagem a alta temperatura.

Sabe-se que as diferentes partes das sementes de milho diferem na sua origem, sendo $2n$, o número cromossômico do pericarpo, igual ao do parental feminino (Groszmann & Sprague, 1948). No cruzamento 1/11, por exemplo, vê-se que a espessura do pericarpo é menor que a da linhagem 11, seu parental feminino. No entanto, quando se compara a estrutura do pericarpo, percebe-se

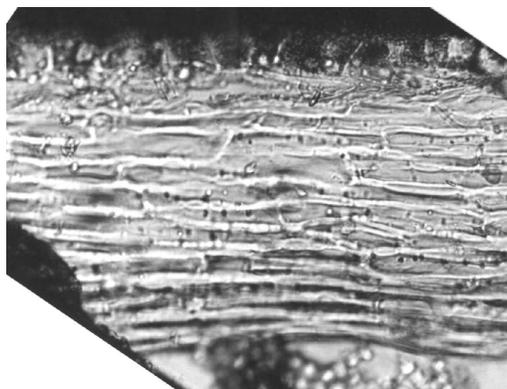


FIGURA 16 – Pericarpo da linhagem 1 de sementes de milho, produzidas na safra 2000/01. Magnitude 10x. UFLA, Lavras – MG, 2003.



FIGURA 17 – Pericarpo da linhagem 11 de sementes de milho, produzidas na safra 2000/01. Magnitude 10x. UFLA, Lavras – MG, 2003.

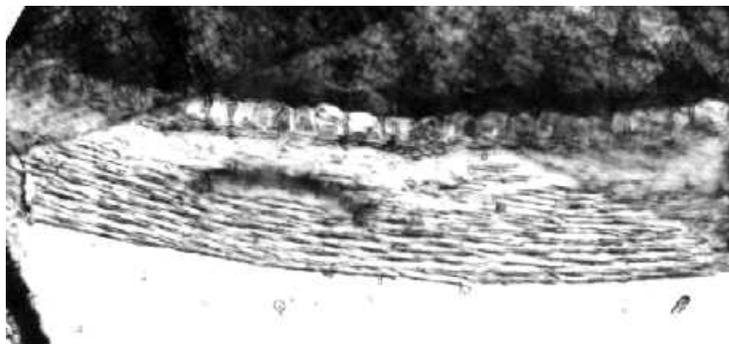


FIGURA 18 – Pericarpo da linhagem 7 de sementes de milho, produzidas na safra 2000/01. UFLA, Lavras – MG, 2003.

grande semelhança do híbrido com seu parental feminino. O mesmo pode ser observado para o pericarpo das sementes híbridas 11/1 e 7/1 (Figuras 12 e 13). Maior semelhança se verifica para o pericarpo da linhagem 1 (Figura 16), parental feminino para ambos, que apresenta um pericarpo menos homogêneo, constituído por células menos densas e compactadas na sua periferia. Nas Figuras 17 e 18 estão representadas as estruturas do pericarpo das linhagens 11 e 7, parentais masculinos dos híbridos 11/1 e 7/1, respectivamente.

Haddad (1931), citado por Tracy & Galinat (1987), demonstrou que o pericarpo de sementes de linhagens de milho e de seus híbridos apresentaram, na maturidade, o mesmo número de camadas de células, mas diferiram na espessura. Em sementes de milho doce, Cardoso (2001) verificou que os híbridos que apresentavam menor espessura do pericarpo eram provenientes de genitores femininos que apresentavam tal fenótipo.

Diferenças no crescimento do grão entre híbridos e recíprocos de milho foram observadas por Bagnara & Daynard (1983). Os autores verificaram que a influência do parental masculino e feminino foi muito similar para todos os três

componentes do grão, ou seja, endosperma, embrião e pericarpo, mesmo apresentando uma composição genômica diferente, sugerindo a influência da herança citoplasmática. Embora o pericarpo seja um tecido de origem materna, Bagnara & Daynard (1983) constataram a influência do parental masculino sobre o crescimento do pericarpo logo após polinização, e o argumento dos autores foi que algum estímulo hormonal do embrião, do endosperma ou do grão de pólen, tenha ocasionado tal fato.

Pela análise física foi possível observar algumas diferenças na estrutura do pericarpo das sementes que podem influenciar na tolerância das sementes de determinados genótipos a alta temperatura de secagem. Embora não tenha sido determinada nesta pesquisa a taxa de perda de água das sementes, uma estrutura menos densa do pericarpo, formado por células menos compactadas, parece ter refletido positivamente sobre a qualidade fisiológica das sementes para os diferentes híbridos.

É importante mencionar que o aspecto físico do pericarpo é um dos fatores que podem estar afetando a tolerância a alta temperatura de secagem. Como mencionado por Leprince et al (1993), nenhum mecanismo por si só é responsável por essa tolerância, sendo cada componente igualmente crítico, atuando em sinergismo. E apesar de serem determinados geneticamente, a presença desses mecanismos pode ser intensificada, ou reduzida, de acordo com a taxa de secagem da semente ou com o meio ambiente no qual a semente foi desenvolvida.

6 CONCLUSÕES

Os perfis isoenzimáticos para a α -amilase revelam uma maior intensidade de banda para as sementes das linhagens e de híbridos tolerantes a alta temperatura de secagem.

Uma maior concentração de frações de proteínas resistentes ao calor, de peso molecular entre 18,5 e 44,1 kDa, é verificada nas sementes das linhagens classificadas como tolerantes a alta temperatura de secagem.

Os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor são semelhantes entre sementes dos híbridos e do recíproco.

Sementes de linhagens e híbridos que apresentam estrutura do pericarpo mais densa, formada por células mais compactadas, são mais sensíveis a alta temperatura de secagem.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242 p.

BAGNARA, D.; DAYNARD, T. B. Reciprocal differences in kernel growth among four maize inbreds. **Maydica**, Bergamo, v. 28, n. 4, p. 357-363, 1983.

BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 3, p. 868-874, July 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BURRIS, J. S.; NAVRATIL, R. J. Drying high-moisture seed corn. **Proceeding Annual Corn Sorghum Research Congress**, Dordrecht, n. 35, p. 116-132, 1980.

BURRIS, J. S.; PETERSON, J. M.; PERDOMO. Morphological and physiological changes associated with desiccation in maize embryos. In: **INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology**, 5., 1995, Reading. **Proceedings...** Reading: University of Reading, 1997. p. 103-111.

CARDOSO, E. T. **Genética de caracteres agronômicos e de qualidade em milho doce**. 2001. 68 f. Tese (Doutorado em Plantas de Lavoura) -Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CROSS, J. W.; ADAMS, W. R. Differences in the embryo-specific globulins among maize inbred lines and their hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 6, p. 1160-1162, Nov./Dec. 1983.

GOLOVINA, E. A.; HOEKSTRA, F. A.; van AELST, A. C. Programmed cell death or desiccation tolerance: two possible routes for wheat endosperm cells. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 365-379, Sept. 2000.

GOMES, M. de S.; VON PINHO, É. V. R.; VON PINHO, R. G.; VIEIRA, M. G. G. C. Efeito da heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho, **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 7-17, 2000.

GROSZMANN, A.; SPRAGUE, G. F. Comparative growth rates in a reciprocal maize cross: 1. The kernel and its component parts. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v. 40, n. 1, p. 88-98, Jan. 1948.

HERTER, U.; BURRIS, J. S. Effect of drying rate and temperature on drying injury of corn seed. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, n. 3, p. 763-774, July 1989.

IMOLESI, A. S.; VON-PINHO, E. V. R.; VON-PINHO, R. G.; VIEIRA, M. G. G. C.; CORRÊA, R. S. B. Efeito da adubação nitrogenada em características morfo-agronômicas e nos padrões eletroforéticos de proteínas e isoenzimas de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 17-24, 2001.

KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.

KOLLIPARA, K. P.; SAAB, I. N.; WYCH, R. D.; LAUER, M. J.; SINGLETARY, G. W. Expression profiling of reciprocal maize hybrids divergent for cold germination and desiccation tolerance. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 3, p. 974-992, July 2002.

LEPRINCE, O.; HENDRY G. A. F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 231-246, Sept. 1993.

- LOPES, M. A.; LARKINS, B. A. Endosperm origin, development, and function. **The plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1383-1399, Oct. 1993.
- MADDEN, R. F.; BURRIS, J. S. Respiration and mitochondrial characteristics of imbibing maize embryos damaged by high temperatures during desiccation. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 6, p. 1661-1667, Nov./Dec. 1995.
- MCCARTY, D. R.; CARSON, C. B. The molecular genetics of seed maturation in maize. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, p. 267-272, 1991.
- NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. The effect of drying temperature on corn seed quality. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, n. 3, p. 487-496, June 1984.
- NAVRATIL, R. J.; BURRIS, J. S. Small-scale dryer designer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, p. 159-161, 1982.
- PALEG, L. G. Physiological effects of giberellins. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 16, p. 291-322, 1965.
- PAMMENTER, N. M.; BERJAK, P. Uma revisão da fisiologia de sementes recalcitrantes em relação aos mecanismos de tolerância à dessecação. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Mar. 1999.
- PEPLINSKI, A. J. et al. Drying of high moisture corn: changes in properties and physical quality. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 71, n. 2, p. 129-133, Mar./Apr. 1994.
- PERDOMO, A.; BURRIS, J. Histochemical, physiological, and ultrastructural changes in the maize embryo during artificial drying. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1236-1244, Sept./Oct. 1998.
- PURDY, J. L.; CRANE, P. L. Influence of pericarp on differential drying rate in "mature" corn. (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 7, n. 4, p. 379-381, July/Au. 1967.
- QUEITSCH, C.; HONG, S. W.; VIERLING, E.; LINDQUIST, S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 4, p. 479-492, Apr. 2000.

RAMOS, A.; CARNEIRO, J. G. de A. Envelhecimento artificial de sementes de pinheiro do paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 19-24, jan. 1991.

ROOD, S. B.; LARSEN, K. M. Gibberellins, amylase and the onset of heterosis in maize seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 39, n. 119, p. 223-233, Feb. 1988.

ROSA, S. D. V. F. da. **Indu o de tolerância   alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento a baixa temperatura**. 2000. 121 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROSA, S. D. V. F. da; VON-PINHO,  . V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; SANTOS, C. D.; VEIGA, R. D. Qualidade fisiológica e atividade enzimática em sementes de milho submetidas à secagem artificial. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 177-184, 2000.

SEYEDIN, N.; BURRIS, J. S.; FLYNN, T. E. Physiological studies on the effects of drying temperatures on corn seed quality. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, n. 3, p. 497-504, June 1984.

TRACY, W. F.; GALINAT, W. C. Thickness and cell layer number of the pericarp of sweet corn and some of its relatives. **Hort Science**, Alexandria, v. 22, n. 4, p. 645-647, Aug. 1987.

VEIT, B.; SCHMIDT, R. J.; HAKE, S.; YANOFSKY, M. F. Maize floral development: new genes and old mutants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1205-1215, Oct. 1993.

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Análise de variância dos dados obtidos do teste de germinação (TG); primeira contagem do teste de germinação (1 ^a C); envelhecimento acelerado (EA); teste de frio (TF) e condutividade elétrica (CE) de sementes de linhagens de milho secadas artificialmente.....	141
TABELA 2A	Análise de variância conjunta para o teste de germinação, teste frio e envelhecimento acelerado de linhagens de milho produzidas nas safras 1999/00 e 2000/01 e submetidas à secagem artificial.....	142
TABELA 3A	Análise de variância dos dados obtidos da primeira contagem (1 ^a C) e contagem final do teste de germinação (TG), teste frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) e teste de condutividade elétrica (CE) de um dialelo parcial, incluindo progenitores, híbridos F ₁ 's e recíprocos.....	143
TABELA 4A	Análise de variância dos dados obtidos do teste de germinação (TG); primeira contagem do teste de germinação (1 ^a C); envelhecimento acelerado (EA); teste frio (TF) e condutividade elétrica (CE) de sementes de linhagens, de híbridos F ₁ 's e recíprocos de milho, secadas artificialmente.....	145

ANEXO B		Página
TABELA 1B	Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn), e médias (Tm), da umidade relativa (UR), da precipitação total (Pt) e da insolação (I) dos meses correspondentes ao período de desenvolvimento da cultura na safra 1999/00.....	146
TABELA 2B	Valores diários de umidade relativa e temperatura do ar ambiente, correspondentes ao período de secagem das sementes na safra 1999/00.....	147
TABELA 3B	Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn), e médias (Tm), da umidade relativa (UR), da precipitação total (Pt) e da insolação (I) dos meses correspondentes ao período de desenvolvimento da cultura na safra 2000/01.....	148
TABELA 4B	Valores diários de umidade relativa e temperatura do ar ambiente, correspondentes ao período de secagem das sementes na safra 2000/01.....	149

TABELA 1A - Análise de variância dos dados obtidos do teste de germinação (TG); primeira contagem do teste de germinação (1^aC); envelhecimento acelerado (EA); teste de frio (TF) e condutividade elétrica (CE) de sementes de linhagens de milho secadas artificialmente. UFLA, Lavras – MG, 2003.

F.V	G.L	Quadrados Médios				
		TG ¹	1 ^a C ¹	EA ¹	TF ¹	CE
Linhagens	30	0.2556**	0.2633**	0.5371**	0.3167**	249.7707**
Erro	93	0.0042	0.0051	0.0073	0.0063	3.8819
CV (%)		5.84	9.16	10.80	8.35	7.93
Média geral		1.11	0.78	0.79	0.95	24.85

¹Dados transformados em arco – seno $\sqrt{X/100}$

** Teste F significativo a 1% de probabilidade

TABELA 2A - Análise de variância conjunta para o teste de germinação, teste frio e envelhecimento acelerado de linhagens de milho produzidas nas safras 1999/00 e 2000/01 e submetidas à secagem artificial. UFLA, Lavras – MG, 2003.

F.V.	G.L.	QM ¹		
		TG	TF	EA
Safra (S)	1	32400.110**	38560.167**	29856.760**
Linhagens (L)	11	4053.290**	3535.227**	3186.601**
S x L	11	2783.739**	4624.439**	8316.442**
Erro	69	31.299	30.867	18.758
Média geral (%)		56.28	43.63	37.68

¹ Análise de variância realizada com os totais dos dados.

** Teste F significativo a 1% de probabilidade.

TABELA 3A – Análise de variância dos dados obtidos da primeira contagem (1^{a}C) e contagem final do teste de germinação (TG), teste frio (TF), envelhecimento acelerado (EA) e teste de condutividade elétrica (CE) de um dialelo parcial, incluindo genitores, híbridos F_1 's e recíprocos. UFLA, Lavras – MG, 2003.

F.V.	1^{a}C^1			TG			TF		
	G.L.	S.Q.	Q.M.	G.L.	S.Q.	Q.M.	G.L.	S.Q.	Q.M.
BLOCOS	3	28.055	9.352**	3	455.020	151.673*	3	676.970	225.657**
TRATAMENTOS	70	1751.435	25.021**	70	208774.220	2982.489**	77	219730.570	2853.644**
Genitores (G)		332.542			36986.510			40011.330	
Grupo 1 (G1)	5	154.817	30.963**	5	17127.000	3425.400**	5	7305.330	1461.066**
Grupo 2 (G2)	4	173.947	43.487**	4	19123.000	4780.750**	5	31119.000	6223.800**
G1 vs G2	1	3.777	3.777**	1	736.510	736.510**	1	1587.000	1587.000**
Cruzamentos (C)		1161.741			149099.850			173280.110	
CGC 1	5	111.815	22.363**	5	12677.310	2535.462**	5	17071.680	3414.336**
CGC2	5	152.508	30.502**	5	24678.440	4935.688**	5	32909.840	6581.968**
CEC	19	292.004	15.369**	19	40961.690	2155.878**	22	41362.200	1880.100**
Recíprocos	30	618.655	20.622**	30	74704.810	2490.160**	33	86656.060	2625.941**
G vs C	1	257.152	257.152**	1	22687.860	22687.860**	1	6439.130	6439.130**
ERRO	210	102.257	0.487	210	9301.35	44.292	231	11489.9	49.740
Média		5.74			57.56			34.24	

¹ Dados transformados em raiz de x

** e * Tese F significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ^{NS} não significativo a 5% de probabilidade.

“..Continua...”

“TABELA 3A, Cont.”

F.V.	EA			CE ²		
	G.L.	S.Q.	Q.M.	G.L.	S.Q.	Q.M.
BLOCOS	3	146.830	48.943 ^{NS}	3	0.0374	0.0125 ^{**}
TRATAMENTOS	83	278046.520	3349.958 ^{**}	68	4.1603	0.0612 ^{**}
Genitores (G)		50412.580			0.6836	
Grupo 1 (G1)	5	1322.830	264.566 ^{**}	5	0.3802	0.0760 ^{**}
Grupo 2 (G2)	5	40821.000	8164.200 ^{**}	4	0.3014	0.0753 ^{**}
G1 vs G2	1	8268.750	8268.750 ^{**}	1	0.0020	0.0020 ^{NS}
Cruzamentos (C)		223395.600			3.3943	
CGC 1	5	28483.340	5696.668 ^{**}	5	0.5560	0.1112 ^{**}
CGC2	5	40389.530	8077.906 ^{**}	5	0.8231	0.1656 ^{**}
CEC	25	49383.73	1975.349 ^{**}	18	0.4168	0.0231 ^{**}
Recíprocos	36	105138.970	2920.527 ^{**}	29	1.4526	0.0501 ^{**}
G vs C	1	4238.340	4238.340 ^{**}	1	0.0824	0.0824 ^{**}
ERRO	249	5896.11	23.679	204	0.1975	0.00097
Média		28.74			1.56	

² Dados transformados em LOG x

^{**} Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 4A - Análise de variância dos dados obtidos do teste de germinação (TG); primeira contagem do teste de germinação (1^aC); envelhecimento acelerado (EA); teste frio (TF) e condutividade elétrica (CE) de sementes de linhagens, de híbridos F₁'s e recíprocos de milho, secadas artificialmente. UFLA, Lavras-MG, 2003.

F.V	QM ¹		QM		QM		QM		QM ²	
	GL	1 ^a C	GL	TG	GL	TF	GL	EA	GL	CE
Blocos	3	5.2969**	3	110.5692 ^{NS}	3	258.0082**	3	48.8425 ^{NS}	3	0.0132**
Tratamentos	76	26.0942**	76	3267.2058**	80	2823.3140**	83	3350.1206**	75	0.0619**
Erro	228	0.5206	228	42.8581	240	50.9452	249	23.6470	225	0.0009
Média	5.48		56.84		34.39		28.74		1.55	

¹dados transformados em \sqrt{x}

²dados transformados em log x

** Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 1B - Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn), e médias (Tm), da umidade relativa (UR), da precipitação total (Pt) e da insolação (I) dos meses correspondentes ao período de desenvolvimento da cultura na safra 1999/00. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Meses	Tx (°C)	Tn (°C)	Tm (°C)	UR (%)	Pt (mm)	I (horas)
Novembro	26.6	15.5	20.3	71	143.9	6.1
Dezembro	27.4	17.5	21.8	76	367.7	5.9
Janeiro	28.4	18.4	22.7	77	459.8	6.5
Fevereiro	28.4	18.1	22.3	78	156	5.9
março	27.9	17.7	21.8	79	192.8	6.1

Fonte: Setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia - UFLA.

TABELA 2B - Valores diários de umidade relativa e temperatura do ar ambiente, correspondentes ao período de secagem das sementes na safra 1999/00. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Dia	UR max.	UR min.	T max.	T min.
16/03	95	65	25	19
17/03	91	62	25	19
18/03	90	52	27	19
19/03	85	55	27	19
20/03	95	70	25	20
21/03	95	70	26	20
22/03	95	70	25	18
27/03	80	53	28	22
28/03	89	59	26	20
29/03	91	65	26	20
30/03	88	60	25	20
31/03	90	55	26	20
01/04	90	55	27	20
02/04	90	55	26	19
04/04	90	55	25	19
05/04	90	52	24	18
06/04	90	52	26	16
07/04	87	53	26	17
08/04	90	55	25	17
Médias	90.1	58.6	25.8	19.1

TABELA 3B - Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn), e médias (Tm), da umidade relativa (UR), da precipitação total (Pt) e da insolação (I) dos meses correspondentes ao período de desenvolvimento da cultura na safra 2000/01. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Meses	Tx (°C)	Tn (°C)	Tm (°C)	UR (%)	Pt (mm)	I (horas)
Novembro	26.9	17.0	21.1	76	239.2	5.5
Dezembro	28.2	18.0	22.2	78	233.8	5.7
Janeiro	29.4	18.5	23.0	72	147.5	7.5
Fevereiro	31.0	18.4	24.5	69	46.8	8.4
Março	28.1	17.9	22.6	75	146.4	6.6

Fonte: Setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia - UFLA.

TABELA 4B - Valores diários de umidade relativa e temperatura do ar ambiente, correspondentes ao período de secagem das sementes na safra 2000/01. UFLA, Lavras – MG, 2003.

Dia	UR max.	UR min.	T max.	T min.
05/03	90	60	27	20
06/03	90	60	27	20
07/03	85	55	28	21
08/03	85	56	28	21
09/03	87	77	23	21
10/03	95	74	24	20
11/03	95	60	27	19
14/03	75	55	29	20
15/03	82	40	29	21
16/03	79	45	29	20
17/03	75	43	29	21
18/03	70	40	29	21
19/03	80	46	29	21
20/03	78	55	25	21
21/03	80	46	24	20
22/03	79	50	29	21
23/03	75	45	29	21
24/03	75	49	29	21
25/03	75	50	30	21
26/03	73	46	30	21
27/03	87	60	27	20
Médias	81.4	53.0	27.6	20.6