



**PEDRO HENRIQUE DE ANDRADE REZENDE
PEREIRA**

**EFEITO DO PÓLEN NA PRODUTIVIDADE E
QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO**

LAVRAS – MG

2013

PEDRO HENRIQUE DE ANDRADE REZENDE PEREIRA

**EFEITO DO PÓLEN NA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE
SEMENTES DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Sementes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

LAVRAS – MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Pereira, Pedro Henrique de Andrade Rezende.

Efeito do pólen na produtividade e qualidade de sementes de milho / Pedro Henrique de Andrade Rezende Pereira. – Lavras : UFLA, 2013.

72 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Édila Vilela de Resende Von Pinho.

Bibliografia.

1. Zea mays. 2. Zea mays - polinizador. 3. Zea mays - cruzamentos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.1523

PEDRO HENRIQUE DE ANDRADE REZENDE PEREIRA

**EFEITO DO PÓLEN NA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE
SEMENTES DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Sementes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de março de 2013.

Dr. João Cândido de Souza UFLA

Dr. Renzo Garcia Von Pinho UFLA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira EPAMIG

Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho
Orientadora

LAVRAS - MG

2013

Ao meu pai Luiz Antônio,
a minha mãe Maria Carmen,
e aos meus irmãos José Luiz, Antônio Marcos e João Paulo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar o meu caminho;

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de poder realizar o curso de Mestrado;

À professora Édila Vilela de Resende Von Pinho, pela amizade, orientação, confiança e ensinamentos transmitidos;

Aos professores; João Cândido de Souza e Renzo Garcia Von Pinho e ao pesquisador Antônio Rodrigues, pela disponibilidade e contribuição na participação da banca de defesa;

Aos irmãos: José Luiz, Antônio Marcos e João Paulo, obrigado pela amizade e exemplo;

Aos meus pais, familiares e Cristiane, pela compreensão, pelo apoio e incentivo para que eu sempre acreditasse ser possível vencer;

Aos colegas e amigos do Laboratório Central de Análise de Sementes, pelos bons momentos de convivência e ensinamentos no dia a dia;

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, pelo apoio e colaboração sempre manifestados;

E aqueles que direta ou indiretamente me apoiaram em minha caminhada.

RESUMO GERAL

O efeito do cruzamento pelo alopólen que se manifesta na própria geração da planta mãe é considerado o efeito xênia. Sabe-se que a produtividade e a qualidade fisiológica de sementes de milho estão relacionadas com as características dos parentais e podem ser influenciadas pelo efeito da polinização cruzada. Neste trabalho objetivou-se verificar a ocorrência do efeito xênia na produtividade e na estrutura do endosperma de sementes de milho. Objetivou-se ainda estudar a influência do parental masculino, utilizado em cruzamentos, sobre a qualidade fisiológica e sobre a expressão da enzima α -amilase em sementes de milho a partir de cruzamentos entre quatro híbridos simples e três linhagens puras com boas características agronômicas. O experimento foi conduzido em duas épocas de semeadura (25/11/2011 e 15/12/2011). No primeiro ensaio foram produzidas as sementes a partir dos cruzamentos dos híbridos simples: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. O segundo ensaio foi conduzido a 100 m de distância do primeiro e foram produzidas as sementes a partir dos cruzamentos das linhagens: L30 X L91; L30 X L63. Sementes dos híbridos DKB177, DKB 175, DKB175pro, DKB390pro e as linhagens L63, L91 e L30 foram produzidas em campo isolado a 100 m de qualquer outro polinizador, constituindo os tratamentos testemunhas. Foram avaliados o peso de 100 sementes, profundidade de sementes e produtividade. As sementes também foram avaliadas em relação a qualidade fisiológica por meio dos seguintes testes: germinação, teste frio, envelhecimento acelerado e índice de velocidade de germinação. Também foram avaliados a atividade da enzima α -amilase e a estrutura do endosperma de sementes de milho por meio de microscopia eletrônica de varredura. Foi observado efeito xênia sobre a produtividade de sementes de milho. Maior efeito xênia foi observado no cruzamento DKB390pro X DKB175, tendo o DKB390pro como polinizador. Neste cruzamento foram observados maiores incrementos nos valores de peso de 100 sementes e produtividade final. Os maiores incrementos nos valores de germinação e vigor foram observados em sementes do cruzamento da linhagem L30 com a Linhagem L91. Maiores incrementos na atividade da enzima α -amilase foi observado em sementes dos cruzamentos em que linhagem L30 foi utilizada como polinizador. A qualidade fisiológica de sementes de milho e a expressão da enzima α -amilase são influenciados pelo parental masculino utilizados em cruzamentos. O efeito xênia sobre a estrutura do endosperma de sementes de milho varia com o polinizador utilizado em cruzamentos.

Palavras-chave: Efeito xênia. Cruzamentos. Polinizador.

GENERAL ABSTRACT

The allopollen crossing effect, which manifests itself in the mother plant generation, is considered the Xenia effect. It is known that the yield and physiological quality of maize seeds is related to the parental line characteristics and may be influenced by cross pollination. The present work aimed at studying Xenia effect on the yield and on the endosperm structure of maize seeds. It also aimed at studying the influence of the male parent, used in crossings, over the physiological quality and over the expression of the α -amylase enzyme expression on maize seeds from crossing between four single hybrids and three pure lines with good agronomical characteristics. The experiment was conducted in two sowing dates (11/25/2011 and 12/15/2011). In the first trial, we installed single hybrid crosses: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. The second trial was installed at 100 m from the first, with the crosses between lines: L30 X L91, L30 X L63. Seeds from the hybrids DKB177, DKB 175, DKB175 pro DKB390pro and lines L63, L91 and L30 were evaluated as isolated control at 100m from any other pollinator, constituting as witness treatments. We evaluated the weight of 100 seeds and productivity. The seeds were also evaluated in regard to the physiological quality by the following tests: Germination, Cold Test, Accelerated Aging and Germination Speed Index. We also evaluated the activity of the α -amylase enzyme and the endosperm structure of maize seeds by electronic scan microscopy. The Xenia expression was observed over maize seed yield. The largest xenia effect was observed in the DKB390pro X DKB175pro crossings, when pollinized by DKB390pro. We observed the largest increments in the weight of 100 seeds value and in final yield for this crossing. The largest increments in germination and vigor values were observed in seeds from the crossing of line L30 with line L91. Larger increments in α -amylase activity were observed in seeds from the crossing in which line L30 was used as pollinator. The physiological quality of maize seeds and the expression of the α -amylase enzyme are influenced by the male parent used in the crossings. The xenia effect over the endosperm structure of maize seeds varies with the pollinators used in the crossings.

Keywords: Xenia effect. Crossings. Pollinator.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1 Endosperma da semente do cruzamento 30x91 (A), do parental feminino 91x91 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura 41
- Figura 2 Endosperma da semente do cruzamento 30x91 (A), do parental feminino 91x91 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura..... 41
- Figura 3 Endosperma da semente do cruzamento 30x63 (A), do parental feminino 63x63 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura 42
- Figura 4 Endosperma da semente do cruzamento 30x63 (A), do parental feminino 63x63 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura..... 42
- Figura 5 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB177 (A), do parental feminino DKB177 X DKB177 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura 43

- Figura 6 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB177 (A), do parental feminino DKB177 X DKB177 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura..... 43
- Figura 7 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175pro (A), do parental feminino DKB175pro X DKB175pro (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura 44
- Figura 8 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175pro (A), do parental feminino DKB175pro X DKB175pro (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura 44
- Figura 9 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175 (A), do parental feminino DKB175 X DKB175 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura 45
- Figura 10 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175 (A), do parental feminino DKB175 X DKB175 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura..... 45

CAPÍTULO 3

Figura 1	Padrões isoenzimáticos de sementes híbridas de milho produzidas na safra 2011/12 na primeira época de semeadura, revelados para a α -amilase	66
Figura 2	Padrões isoenzimáticos de sementes híbridas de milho produzidas na safra 2011/12 na segunda época de semeadura, revelados para a α -amilase	67

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 Quadrados médios e coeficientes de variação da análise de variância de peso de 100 sementes, profundidade de grãos e produtividade em Ingaí, safra 2011/2012 em duas épocas de semeadura 36
- Tabela 2 Peso de 100 sementes (P 100), profundidade de sementes (PF), produtividade e efeito Xênia em % (Xe) em duas épocas de semeadura(Híbrido e Linhagem da esquerda são doadores de pólen)..... 38

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 Quadrados médios e coeficientes de variação da análise de variância de % de germinação, envelhecimento acelerado, teste frio e índice de velocidade germinação em Ingaí, safra 2011/2012 62
- Tabela 2 Porcentagem de germinação (%G), teste frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), índice de velocidade de germinação (IVG) e efeito do pólen em % (P) em duas épocas de semeadura (Híbrido e Linhagem da esquerda são doadores de pólen)..... 64

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	Introdução Geral	13
1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Efeito xênia	16
	REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 2	Efeito xênia na produtividade e na estrutura do endosperma de sementes de milho	26
1	INTRODUÇÃO	28
2	MATERIAL E MÉTODOS	31
2.1	Instalação do Experimento	31
2.2	Obtenção das Sementes e Avaliações	32
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4	CONCLUSÕES	46
	REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO 3	Efeito do pólen sobre a qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de milho	50
1	INTRODUÇÃO	52
2	MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1	Obtenção das sementes	55
2.2	Teste de Germinação	56
2.3	Teste Frio sem solo	57
2.4	Índice de Velocidade de Germinação	57
2.5	Envelhecimento acelerado	57
2.6	Análise eletroforética da enzima α-amilase	58
2.7	Procedimento Estatístico	58
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4	CONCLUSÕES	69
	REFERÊNCIAS	70

CAPÍTULO 1 Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO

Durante o processo de produção de sementes de milho os cruzamentos e as autofecundações indesejáveis devem ser evitadas para garantir a pureza genética das sementes e conseqüentemente as características das cultivares as quais são desenvolvidas por meio de seleção em programas de melhoramento.

Para garantir a pureza genética é necessário bom planejamento do plantio com isolamento temporal ou espacial entre os campos de produção para não ocorrer sincronismo de florescimento e garantindo portanto a qualidade genética dos lotes de sementes.

Muitos trabalhos são realizados para determinar a distância entre campos de produção de sementes de plantas alógamas como o milho e fatores como a viabilidade do grão de pólen, declividade e direção de vento devem ser levados em consideração para que não ocorra a contaminação genética de sementes.

Nos cruzamentos para a produção de sementes híbridas e durante a multiplicação de linhagens pode ocorrer o fenômeno de xênia que é considerado como o resultado do cruzamento pelo pólen externo que se manifesta na geração da planta mãe.

Em milho a semente é formada a partir de dupla fertilização ou singamia, ou seja um dos núcleos do grão de pólen une-se à oosfera, dando origem ao embrião, e o outro núcleo do grão de pólen une-se aos dois núcleos polares do óvulo originando o endosperma. Assim, a manifestação de xênia pode ocorrer em caracteres que se expressam no embrião e no endosperma alterando características genéticas e proporcionando mudanças qualitativas e quantitativas.

Estas mudanças podem estar relacionadas à qualidade fisiológica de sementes e à expressão de enzimas envolvidas no processo de germinação das mesmas.

O efeito xênia têm sido explorado em algumas espécies, principalmente em frutíferas, onde diferentes fontes de pólen podem ter efeitos qualitativos e quantitativos nos frutos e sementes, proporcionando melhoria em suas qualidades (KETCHIE; FAIRCHILD; DRAKE, 1996; MIZRAHI et al., 2004). Em milho tem sido observado maiores valores do peso médio de sementes provenientes de alopólen com reflexos positivos na qualidade fisiológica de sementes (MERCER; RAMALHO; RAPOSO, 2002).

O efeito xênia tem sido observado também em outros caracteres como: tamanho, formato, cor, tempo de desenvolvimento de sementes e fruto. Os resultados de xênia podem ser interpretados como uma manifestação precoce da heterose, a qual aumenta a habilidade do endosperma formado, em acumular os fotoassimilados, determinando assim o peso final da semente. Quanto maior a diferença genética entre a planta receptora e a planta doadora de pólen, há mais chance desse fenômeno ocorrer (DENNEY, 1992).

Informações sobre o efeito polinização cruzada para as cultivares de milho tropicais são restritas, principalmente relacionadas aos caracteres que influenciam na qualidade de sementes. Na maioria das pesquisas o efeito dos parentais entre híbridos de milho com diferentes tamanhos de grãos também tem sido observado. Pinter, Szabo e Horompoli (1987) verificaram efeito significativo da polinização de um híbrido de milho de grãos pequenos por outros que se mostraram 30 e 39% maiores, em dois anos consecutivos. Neste mesmo trabalho o efeito não foi significativo no cruzamento de Sze Sc369 e P 3901, no qual, as diferenças nos tamanhos dos grãos foram de 12,3 e 15,4% em dois anos de estudo, evidenciando que tal efeito é variável de um cruzamento para outro.

Para a avaliação de cruzamentos envolvendo o alopólen têm sido utilizados os marcadores morfológicos em sementes e grãos. No entanto, em várias cultivares não há características distintas entre grãos e sementes das mesmas o que dificulta esta avaliação.

Neste trabalho objetivou-se verificar a ocorrência do efeito xênia na produtividade e na estrutura do endosperma de sementes de milho. Objetivou-se ainda estudar a influência do parental masculino, utilizado em cruzamentos, sobre a qualidade fisiológica e na expressão da enzima α -amilase em sementes de milho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Efeito xênia

No Brasil, a produção de sementes híbridas desenvolveu-se, principalmente, na região Centro-Sul, favorecendo a ampliação do número e da capacidade produtiva das companhias privadas produtoras de sementes.

Atualmente, vários híbridos comerciais adaptados para diferentes regiões são recomendados aos agricultores, após ensaios conduzidos em todo o território nacional (FERREIRA FILHO; PERES, 1988). As sementes híbridas de milho são produzidas por meio de emasculação do parental feminino, a qual pode ser realizada manualmente ou por despendoadoras mecânicas. Além desses processos, pode ser utilizada, ainda, a macho esterilidade genética citoplasmática (KORANYI, 1999).

A maioria das sementes comercializadas de milho é híbrida. O híbrido é definido como a primeira geração do cruzamento entre linhagens completamente endogâmicas, variedades de polinização aberta, clones ou qualquer outro tipo de população divergente (ALLARD, 1999). Um dos primeiros trabalhos de hibridação foi realizado por Beal, no final do século XIX, com a cultura do milho. A partir de variedades de polinização aberta, o autor obteve híbridos com até 40% de desempenho superior aos genitores. Esse aumento na produção em plantas da geração F1 está diretamente relacionado com efeito da heterose e com o efeito xênia. A heterose foi empregado por Shull (1909), para expressar os efeitos benéficos da hibridação, ou seja, maior vigor da geração F1 em relação à média dos pais ou ao pai mais produtivo (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1981). A utilização do fenômeno da heterose constitui um meio eficiente para incrementar a produtividade, embora outros caracteres agronômicos sejam melhorados (ALLARD, 1971).

Os resultados de xênia podem ser interpretados como uma manifestação precoce da heterose, a qual aumenta a habilidade do endosperma, modificado geneticamente por polinização cruzada, em acumular os fotoassimilados, determinando assim o peso final e qualidade fisiológica de sementes de milho.

Em experimentos envolvendo diversos tipos de híbridos de milho foi verificado que o efeito do pólen estranho altera o desenvolvimento de sementes de milho. Geralmente o alopólen promove diferenças no peso e na qualidade de sementes autofecundadas em comparação com as sementes provenientes de fertilização cruzada.

No caso do milho sabe-se que o efeito do alopólen pode ocorrer tanto no embrião como no endosperma ou em ambos por serem produtos da fertilização. Neste caso a fêmea contribui com a metade dos gametas femininos para formar o embrião e 2/3 para formar o endosperma, e o macho contribui com metade dos gametas masculinos para o embrião e 1/3 para o endosperma (LUDERS, 2006).

A manifestação do efeito xênia nos caracteres relacionados ao endosperma e ao embrião tem sido relatado em várias pesquisas (BULLANT et al., 2000; DAVARYNIJAD et al., 1994; SEKA; CROSS, 1995). Liu et al. (2010), examinando os níveis de hormônios durante o desenvolvimento da semente para determinar seus efeitos na divisão de células do endosperma, no enchimento de grãos e peso de sementes de milho observou que comparado com autopolinização à fertilização cruzada entre os genótipos ND108 X HOC105 aumentou o rendimento de grãos 10,7% em 2005 e 12,8% em 2006, enquanto que a polinização cruzada entre LY20 X HOC115 diminuiu o rendimento de grãos 12,9% e 18,4%, respectivamente, em 2005 e 2006. Assim, a manifestação de xênia pode alterar características de sementes híbridas de milho, dependendo do polinizador utilizado.

Considerando que o efeito xênia ocorre quando a planta é fertilizada pelo alopólen, características desejáveis como incremento de produtividade e

composição química de sementes e grãos podem ser obtidas apenas com a combinação de genitores específicos. Obviamente esse efeito pode ser observado apenas nos atributos oriundos da fertilização como no caso de características relacionadas ao endosperma e ao embrião. Teoricamente, embora se admita a grande importância da capacidade específica de combinação para a manifestação de tais efeitos, é possível esperar que sejam encontrados genótipos com alta capacidade geral de combinação para o efeito xênia.

Muitas vezes em ensaios de competição de produtividade de híbridos de milho em que parcelas são conduzidas lado a lado, o incremento de produtividade pode ser resultado da fertilização pelo alopólen e não pelo desempenho do próprio híbrido. Quando o híbrido é cultivado pelo agricultor em área na ausência da fertilização pelo alopólen a produtividade pode ser inferior à produtividade do ensaio em decorrência da ausência da fertilização pelo alopólen no campo do agricultor.

Weingartner et al. (2002) verificaram efeito xênia médio de 2,6% no rendimento de grãos de milho. Ao utilizar híbridos macho estéreis e polinizadores não aparentados, identificaram combinação com rendimento 21,4% superior em relação à utilização do polinizador isogênico do híbrido macho estéril. As evidências de que a manifestação do efeito xênia depende principalmente da capacidade específica de combinação também foram mencionadas por Bulant e Gallais (1998), Ketchie, Fairchild e Drake (1996) e Pinter, Szabo e Horompoli (1987). Portanto, há necessidade de estudos para identificar pares de híbridos que mostrem um melhor desempenho com a polinização cruzada. Com isso, poderá ser indicado para produtores de sementes, a possibilidade da conversão de híbridos férteis em macho estéreis para serem comercializados em misturas com polinizadores não aparentados (STAMP et al., 2000; WEINGARTNER et al., 2002). Essas práticas, combinadas com a

sincronia de florescimento, também aumentará o número de grãos por espigas (CÁRCOVA et al., 2000).

A heterose explorada nos híbridos não aparece nas sementes da geração F1, semeadas pelo produtor, mas sim nas plantas originadas destas sementes. Além do maior vigor vegetativo dessas plantas, os grãos produzidos por elas (geração F2), e colhidos pelo produtor, são maiores, mais pesados e em maior número. Porém, por meio do efeito xênia, um incremento heterótico pode ser explorado nos grãos F2, maximizando o seu peso e tamanho. Esse diferencial, poderá ser determinante no aumento da margem de lucro em lavouras de alta tecnologia, onde normalmente são utilizados vários híbridos (ANDRADE, 2005).

Mercer, Ramalho e Raposo (2002) observaram que o efeito da polinização pelo alopólen na cultura do milho contribuiu com o incremento no peso de sementes, porcentagem de germinação e peso seco das plântulas. Resultados semelhantes foram relatados por Bullant e Gallais (1998) e Tsai e Tsai (1990).

Praticamente se conhece pouco sobre a contribuição do efeito do pólen externo sobre a qualidade de sementes de milho. Esclarecimentos do fenômeno poderiam ser úteis na seleção dos genitores de híbridos, para a obtenção de sementes de melhor qualidade e melhor produtividade.

Os produtos da fertilização se encontram no interior da semente (embrião e endosperma). Ao mesmo tempo em que o embrião e o endosperma se desenvolvem, ocorre também o crescimento das paredes que revestirão a semente, isto é, o pericarpo, que contribui com 5% do peso final do grão. No entanto, este tecido independe da fertilização, pois é de origem materna.

No caso do milho, além da produtividade, o efeito xênia pode influenciar teores de óleo, proteína, amido e outras substâncias químicas que

tornam o grão de melhor qualidade e mais atrativo para mercados específicos (LUDERS, 2006).

Tanaka (2011), estudando o efeito do grão de pólen no desenvolvimento de estruturas em sementes e composição química das sementes de milho utilizando dois híbridos, um com concentração normal de óleo (DK752) e outro com alta concentração de óleo (5MG), verificou que a concentração de óleo nas sementes provenientes do cruzamento DK752 X 5MG foi maior do que das sementes provenientes do cruzamento DK752 X DK752 enquanto que as sementes do cruzamento 5MG X 5MG apresentaram a maior quantidade de óleo do que todos os cruzamento estudados. Já para grânulos de amido a quantidade encontrada no endosperma de sementes de milho provenientes do cruzamento DK752 X 5MG foi menor do que do cruzamento DK752 X DK 752 e a menor quantidade de grânulos de amido foi encontrada nas sementes de milho provenientes do cruzamento 5MG X 5MG.

A camada de aleurona é parte integrante do endosperma, que representa 80% do peso total do grão. Ela é composta por uma ou mais camadas de células que circundam o endosperma amídico, exceto na área adjacente ao embrião. A aleurona tem grande concentração de proteínas solúveis que, atualmente, são utilizadas para diversos estudos que envolvem a regulação de antocianinas (JAYARAM; PETERSON, 1992). Essa camada do endosperma continua viável mesmo após o processo de dessecação da semente, pois pode diferenciar-se em tecido digestivo especializado na secreção das enzimas mobilizadoras de reserva do endosperma durante a fase de germinação.

O embrião é um dos produtos da dupla fertilização e é responsável por 10% do peso total do grão em média. Nesse embrião, encontram -se as estruturas que originarão uma nova planta e que serão ativas durante o processo de germinação.

Durante o processo de germinação de sementes de milho, o embrião controla a síntese de hormônios naturais, como as giberilinas, que são secretados no endosperma. Esses hormônios atuam na produção de enzimas hidrolíticas na camada de aleurona, tais como a enzima α -amilase, que é responsável pela degradação das reservas que se encontram no endosperma (TANAKA, 2011). Essa enzima está altamente relacionada à qualidade de sementes de milho, por isso é importante verificar a influência do alopólen na atividade da enzima α -amilase.

Segundo Franco et al. (2002), a α -amilase é responsável por 90% da atividade amilolítica em sementes de milho. Desse modo, genótipos com maior expressão da atividade da enzima α -amilase têm mais facilidade em disponibilizar carboidratos para o embrião, resultando em maior velocidade de germinação e vigor de sementes.

Tanaka e Maddonni (2008) estudaram o efeito do pólen na concentração de óleo da semente de um híbrido com conteúdo normal de óleo (DK752) autopolinizado e o mesmo híbrido polinizado com outro genótipo com alta concentração de óleo (5MG). Esses dois genótipos (DK752 e 5MG como macho e fêmea, respectivamente) foram incluídos no blend comercial de cultivares de alto conteúdo de óleo da Dekalb-Monsanto Argentina. Entre os cruzamentos testados (DK752XDK752, DK752X5MG e 5MGX5MG) foi observado diferenças na concentração de óleo na grão e da relação embrião/semente durante o período de desenvolvimento. Em estágios iniciais de desenvolvimento da semente (<500 graus dias após florescimento feminino) a concentração de óleo aumentou assim como a taxa de desenvolvimento da relação embrião/semente e também aumentou a concentração de óleo no embrião. Entre 500 e 700 graus dias após o espigamento até a maturidade fisiológica a concentração de óleo da semente permaneceu constante nos cruzamentos DK752XDK752 e DK752X5MG e um pequeno aumento ocorreu em sementes

provenientes do cruzamento 5MGX5MG, isso porque houve um pequeno decréscimo na taxa de desenvolvimento da relação embrião/semente do que comparado com taxa de desenvolvimento embrião/semente do período anterior e um pequeno decréscimo na concentração de óleo do embrião nos cruzamentos DK752XDK752 e DK752X5MG e mesma concentração de óleo no embrião para o cruzamento 5MGX5MG.

O milho é um dos cereais mais utilizados na fabricação de produtos alimentícios, portanto é de grande interesse desenvolver grãos com elevado conteúdo de óleo, proteína, amido e outras substâncias químicas que os tornam comercialmente mais atrativos. Um polinizador com alto conteúdo de óleo, que geralmente é pouco produtivo, pode ser usado para aumentar o teor de óleo de uma fêmea com alto rendimento. Edge (1997) utilizou um sistema chamado TOP CROSS® que consistiu na utilização de um híbrido macho-estéril com baixo teor de óleo e alto rendimento de grãos e uma população com alto teor de óleo como polinizador, possibilitando alto rendimento e alto conteúdo de óleo no mesmo genótipo de milho, o que é mais difícil de ser conseguido pelos métodos normais de melhoramento pelo fato dos caracteres serem correlacionados negativamente na maioria das populações de milho (ROSULJ; TRIFUNOVI; HUSIC, 2002).

Portanto, os resultados de xênia podem ser interpretados como a influência gerada pelo alopólen a qual influencia na habilidade do endosperma e embrião acumular os fotoassimilados, determinando assim o peso final a composição química e qualidade de sementes de milho.

REFERÊNCIAS

- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: E. Blucher, 1971. 381 p.
- _____. **Principles of plant breeding**. 3rd ed. New York: J. Wiley, 1999. 485 p.
- ANDRADE, J. A. C. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays l.*). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 1, p. 65-78, jan./abr. 2005.
- BULANT, C. et al. Xenia effect in maize with normal endosperm: II., Kernel growth and enzyme activities during grain filling. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 182-189, Jan. 2000.
- BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I., importance and stability. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1517-1525, Dec. 1998.
- CÁRCOVA, J. et al. Synchronous pollination within and between ears improves kernel set in maize. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 4, p. 1056-1061, July 2000.
- DAVARYNIJAD, G. H. et al. Relationship between pollen donors and quality of fruits of 12 apples cultivars. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POSTHARVEST TREATMENT OF HORTICULTURAL CROPS, 1., 1994, Keesdemet. **Proceedings...** Keeskemmet: Acta Horticulture, 1994. p. 344-354.
- DENNEY, J. O. Xenia includes metaxenia. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 7, p. 722-728, 1992.
- EDGE, M. Seed management issues for “TOP CROSS High Oil Corn”. In: ANNUAL SEED TECHNOLOGY CONFERENCE, 19., 1997, Ames. **Proceedings...** Ames: Iowa State University, 1997. p. 49-55.
- FERREIRA FILHO, J. B. de S.; PERES, F. C. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1988. 41 p. (IAPAR. Circular, 88).
- FRANCO, M. C. et al. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso americano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1145-1150, ago. 2002.

- HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. Heterosis. In: _____. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University, 1981. p. 337-373.
- JAYARAM, C.; PETERSON, P. A. Anthocyanin pigmentation and transposable elements in maize aleurone. In: JANICK, J. (Ed.). **Plant breeding reviews**. Portland: Timber, 1992. p. 91-137.
- KETCHIE, D. O.; FAIRCHILD, E. D.; DRAKE, F. R. Viability of different pear pollen and the effect on fruit set of 'Anjou' pear (*Pyrus communis* L.). **Fruit Varieties Journal**, Urbana, v. 50, n. 2, p. 118-124, 1996.
- KORANYI, P. Characterization of maize seed samples by the electrophoretic patterns of their protein monomers. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 10, n. 1, p. 153-159, 1999.
- LIU, Y. E. et al. Hormonal changes caused by the Xenia effect during Grain filling of normal corn and high oil corn crosses. **Crop Science Magazine**, Madison, v. 50, p. 215-221, Jan./Feb. 2010.
- LUDERS, R. R. **Efeito xenia em híbridos comerciais de milho visando ao aumento da produtividade**. 2006. 125 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- MERCER, J.; RAMALHO, M. A. P.; RAPOSO, F. V. Implicações do fenômeno xênia nos programas de melhoramento de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1338-1343, nov./dez. 2002.
- MIZRAHI, Y. et al. Metaxenia in the vine cacti *Hylocereus polyrhizus* and *Selenicere spp.* **Annals of Botany**, Oxford, v. 93, n. 4, p. 469-472, 2004.
- PINTER, L.; SZABO, J.; HOROMPOLI, E. Effect of metaxenia on the grain weight of the corn (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v. 32, p. 81-88, 1987.
- ROSULJ, M.; TRIFUNOVIC, S.; HUSIC, I. Nine cycles of mass selection for increased oil content in two maize (*Zea mays* L.) synthetics. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, n. 4, p. 449-461, July/Aug. 2002.
- SEKA, D.; CROSS, H. Z. Xenia and maternal effects on maize kernel development. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 80-85, Jan./Feb. 1995.

SHULL, G. H. A pure line method corn breeding. **American Breeders Association Report**, Washington, v. 5, p. 51-59, 1909.

STAMP, P. et al. Increase in the yield of cytoplasmic male sterile maize revisited. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 6, p. 1586-1587, Nov. 2000.

TANAKA, W. Pollen source effects on growth of kernel structures and embryo chemical compound in maize. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 666-667, 2011.

TANAKA, W.; MADDONNI, G. A. Pollen source and post flowering source/sink ratio effects on maize kernel weight and oil concentration. **Crop Science**, Madison, v. 104, n. 2, p. 325-334, 2008.

TSAI, C. L.; TSAI, C. Y. Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 4, p. 804-808, July 1990.

WEINGARTNER, U. et al. Combining cytoplasmic male sterility and xenia increases grain yield of maize hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 6, p. 1848-1856, Nov. 2002.

CAPÍTULO 2 Efeito xênia na produtividade e na estrutura do endosperma de sementes de milho

RESUMO

O efeito xênia é considerado o resultado do cruzamento pelo alopólen que se manifesta na própria geração da planta mãe. Neste trabalho objetivou-se verificar a ocorrência do efeito xênia na produtividade e na estrutura do endosperma de sementes de milho. Foram utilizados quatro híbridos simples e três linhagens puras com boas características agronômicas. O experimento foi conduzido em duas épocas de semeadura (25/11/2011 e 15/12/2011). No primeiro ensaio foram produzidas as sementes a partir dos cruzamentos dos híbridos simples: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. O segundo ensaio foi conduzido a 100 m de distância do primeiro e foram produzidas as sementes a partir dos cruzamentos das linhagens: L30 X L91; L30 X L63. Sementes dos híbridos DKB177, DKB175, DKB175pro, DKB390pro e as linhagens L63, L91 e L30 foram produzidas em campo isolado a 100 m de qualquer outro polinizador, constituindo os tratamentos testemunhas. Foram avaliados o peso de 100 sementes, profundidade de sementes e a produtividade. A expressão de xênia foi observado nas sementes do DKB175pro quando polinizado pelo DKB390pro apresentando acréscimo de 23% no peso de 100 sementes. Para o cruzamento DKB390pro X DKB175, tendo o DKB390pro como polinizador, foram observados os maiores acréscimos nos valores de peso de 100 sementes e produtividade final nas duas épocas de semeadura. O efeito xênia sobre a estrutura do endosperma de sementes de milho varia com o polinizador utilizado em cruzamentos.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Cruzamentos. Alopólen.

CHAPTER 2 Xenia Effect on maize Productivity and in the endosperm structure of maize kernels

ABSTRACT

The Xenia effect is regarded as the result of crossing by the allopollen which manifests itself in the mother plant generation. This work aimed at verifying the Xenia effect in maize seed productivity and in the endosperm structure of maize seeds. Four single hybrids and three inbred lines with good agronomic characteristics were used. The experiment was conducted in two sowing dates (11/25/2011 and 12/15/2011). In the first trial, seeds were produced from the crossing between simple hybrids: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. The second trial was installed at 100 m from the first with the crossings between lines: L30 X L91, L30 X L63. Seeds of hybrid DKB177, DKB 175, DKB175 pro, DKB390pro and the inbred lines L63, L91 and L30, were produced in an isolated field at 100 m from any other pollinator, constituting as witness treatments. The weight of 100 seeds, seed depth and productivity were evaluated. The Xenia expression was observed in the DKB175pro maize seeds when pollinized by DKB390pro, increasing in 23.58% the weight of 100 seeds. For the DKB390pro X DKB175 crossing, with the DKB390pro as pollinator, we observed the largest increments in the weight of 100 seeds value and in the final yield on both sowing periods. The xenia effect over the endosperm structure of maize seeds varies with the pollinator used in the crossings.

Keywords: *Zea mays* L.. Crosses. Allopollen.

1 INTRODUÇÃO

O efeito do cruzamento que se manifesta na geração da planta mãe é considerado o efeito xênia e pode alterar características quantitativas e qualitativas de híbridos e linhagens de milho. O fenômeno de xênia pode alterar o peso do endosperma e do embrião como também a forma, cor, textura, composição química e tempo de desenvolvimento da semente (BULLANT et al., 2000; DAVARYNIJAD et al., 1994; SEKA; CROSS, 1995).

A semente de milho é formada a partir de dupla fertilização ou singamia, ou seja a planta é formada a partir do zigoto que 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). Um dos núcleos do grão de pólen une-se à oosfera, dando origem ao embrião, e o outro núcleo do grão de pólen une-se aos dois núcleos polares do saco embrionário originando o endosperma. Assim, a manifestação do efeito xênia pode ocorrer em caracteres que se expressam no embrião e no endosperma alterando características genéticas e proporcionando mudanças qualitativas e quantitativas.

Para a cultura do milho foi observado que o efeito xênia contribuiu com o incremento no peso dos grãos, porcentagem de germinação e peso seco das plântulas (MERCER; RAMALHO; RAPOSO, 2002). Resultados semelhantes foram relatados por Bullant e Gallais (1998) e Tsai e Tsai (1990). Diferentes fontes de pólen podem ter efeitos qualitativos e quantitativos nos frutos e sementes, proporcionando melhoria em suas qualidades (KETCHIE; FAIRCHILD; DRAKE, 1996; MIZRAHI et al., 2004).

Os genes do polinizador podem afetar o formato, cor a composição química e o tempo de desenvolvimento do pericarpo, mesocarpo, endosperma e também o peso do embrião e a produção de frutos e sementes (DENNY, 1992).

Alguns poucos estudos têm mostrado a importância desse fenômeno no milho (*Zea mays L.*) em que a fertilização pelo alopólen promoveu acréscimos no tamanho do embrião (YAMADA; SUENGA; NIKAJIMA, 1992) e peso (DOEHLERT; LAMBERT, 1991) assim como peso de semente (BULANT et al., 2000; LUDERS et al., 2008) e produtividade final (WEILAND, 1992).

Para as empresas produtoras de sementes, o peso médio de 100 (cem) sementes da linhagem utilizada como parental feminino é um dos parâmetros considerados para definir a producibilidade do híbrido. Em casos de valores de peso de 100 (cem) sementes superiores a 40 g a producibilidade do híbrido se torna desfavorável, uma vez que o maior número de sementes produzidas é mais viável economicamente em detrimento do peso das mesmas, já que são comercializadas as quantidades de sementes.

Na maioria dos ensaios para a definição da producibilidade de híbridos os dados são obtidos em parcelas conduzidas lado a lado, com diferentes genótipos e sem nenhum controle de polinização, ou seja, a informação do efeito do alopólen no cruzamento, que é considerado o efeito xênia, não é levado em consideração na definição da producibilidade dos híbridos, o que torna tal parâmetro inadequado, pois, como observado em algumas pesquisas, o efeito do alopólen altera o desempenho de linhagens e híbridos de milho e deve ser levado em consideração.

Diferenças nas características morfológicas da estrutura do endosperma de sementes de milho têm sido relatado em algumas pesquisas. Tanaka (2011), estudando o efeito do grão de pólen no desenvolvimento de estruturas e composição química das sementes de milho utilizando dois híbridos, um com concentração normal de óleo (DK752) e outro com alta concentração de óleo (5MG), verificou por meio de eletromicrografias que os grânulos de amido encontrados em células do endosperma em sementes de milho provenientes do cruzamento DK752 X 5MG foi menor do que do cruzamento DK752 X DK 752

e a menor quantidade de grânulos de amido foi encontrada no endosperma de sementes de milho provenientes do cruzamento 5MG X 5MG.

Nesta pesquisa objetivou-se verificar a ocorrência do efeito xênia na produtividade e na estrutura do endosperma de sementes de milho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Instalação do Experimento

O experimento, para a produção de sementes, foi instalado na fazenda Taquaral em Ingaí, situado a 21°25' Latitude Sul, 44°55' Longitude Oeste e altitude de 910 m, no estado de Minas Gerais. A temperatura média anual e a precipitação foram de 19,2 °C de 1629,7 mm. As análises de laboratório foram conduzidas no Laboratório Central de Sementes (LAS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

O experimento foi conduzido juntamente com a lavoura comercial de milho em uma área plana e homogênea de 10 ha. A instalação do ensaio ocorreu 25 dias após o plantio da lavoura comercial a fim de se evitar coincidência de florescimento entre o experimento e a lavoura.

As sementes de híbridos duplos foram produzidas a partir dos seguintes cruzamentos de híbridos simples: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. Para a produção de sementes de híbridos simples foi utilizado o isolamento espacial de 100 m de distância do campo de produção de híbridos duplos, à fim de se evitar a contaminação genética, e as sementes foram produzidas a partir dos cruzamentos das seguintes linhagens: L30 X L91; L30 X L63. Foram produzidas sementes dos híbridos DKB177, DKB 175, DKB175pro, DKB390pro e das linhagens L63, L91 e L30 em área isolada a 100 m de fontes de polinização, constituindo os tratamentos testemunhas e totalizando 12 tratamentos. A semeadura foi realizada em duas épocas, 25/11/2011 e 15/12/2011, sob o sistema de plantio direto.

Foi realizada a adubação de 400 Kg/ha da fórmula 8-28-16 de N-P2O5-K2O + Zn na semeadura e, em cobertura, com 400 kg/ha da fórmula 30-00-20 de N-P2O5-K2O, no estágio fenológico V4 (4 folhas totalmente expandidas). Os

demais tratos culturais foram os normalmente recomendados para a cultura do milho no sistema de plantio direto (LUDERS, 2006).

Cada parcela constou de quatro linhas de dez metros, espaçadas de 0,80 m entre si e 0,20 m entre plantas. As plantas das duas linhas centrais de cada parcela foram despendoadas para receber o pólen do parental masculino e as duas linhas laterais foram os doadores de pólen (polinizador). O ensaio foi instalado em delineamento de blocos casualizados (DBC) com quatro repetições. Vale ressaltar que os genótipos envolvidos nos cruzamentos apresentaram coincidência total de florescimento.

2.2 Obtenção das Sementes e Avaliações

A colheita foi realizada em espigas quando as sementes atingiram 35% de teor de água e, posteriormente, as sementes foram secadas em secador estacionário a 30 °C até atingirem 13% de teor de água. Após secagem, as sementes foram debulhadas manualmente e armazenadas em câmara fria até a realização das análises, no setor de sementes da Universidade Federal de Lavras.

Para a avaliação do peso de 100 (cem) sementes (g): foram contadas manualmente 100 (cem) sementes em duas repetições, de mesma peneira, de cada parcela e em seguida foi obtido o peso de 100 (cem) sementes, em gramas (g). A produtividade (kg/ha) foi determinada após a debulha, com a correção do teor de água para 13% e estande de 60000 plantas por hectare (Kg/ha).

Para a avaliação da profundidade de sementes (mm) foram escolhidas duas espigas melhor polinizadas de cada parcela, nas quais foram medidas o diâmetro médio de espigas (mm). Em seguida foram retirados os grãos da parte central da espiga e obtido o diâmetro médio de sabugos e por diferença foi obtido a profundidade média de sementes (mm).

Para cada característica determinada, foi calculado o efeito xênia, pela expressão utilizada por Andrade e Pereira (2005).

$$Xe = \frac{100(HsX - Hs\Theta)}{Hs\Theta}$$

Sendo:

Xe (%): efeito xênia em porcentagem;

HsX: produção dos cruzamentos pelo alopólen;

Hs Θ : produção dos cruzamentos *sib* (parental feminino polinizado por si próprio).

Os dados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância individual em cada época separadamente. A princípio, foram realizados os testes de aditividade dos efeitos do modelo e a normalidade dos erros. Não havendo nenhuma restrição a essas pressuposições, foram realizadas as análises de variâncias individuais. De posse dos resultados dessas análises também foi verificada a pressuposição de homogeneidade de variâncias pelo teste de Hartely, utilizado por Gomes (1990), o qual se baseia na divisão do maior quadrado médio do resíduo pelo menor quadrado médio do resíduo das análises individuais. Sendo o valor resultante inferior a sete, infere-se homogeneidade de variâncias, o que possibilitou a análise conjunta dos experimentos. Assim, os dados de cada variável, obtidos em cada época de semeadura, foram submetidos a uma análise de variância conjunta.

Foi realizada a análise de variância para todas as variáveis, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000). Para a comparação entre as médias, foi utilizado o Teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade e todo cruzamento que diferiu de seu genitor feminino polinizado por si próprio ("sib") foi considerado como apresentando efeito xênia significativo. Desta maneira considerou-se que todos os híbridos polinizados por ele mesmo não apresentaram efeito xênia.

Para as análises do endosperma de sementes de milho por meio de microscopia eletrônica de varredura as sementes de milho foram cortadas transversalmente e longitudinalmente em nitrogênio líquido e em seguida foram colocadas em fixador primário Karnovsky modificado (Glutaraldeído 2,5%, Formaldeído 2,5% em tampão Cacodilato de sódio 0,05 M pH 7,2 e CaCl_2 0,001 M), onde permaneceram por 48 horas. Para a avaliação do endosperma, as sementes foram colocadas em glicerol por 30 minutos e depois foram submetidas em série de três lavagens de 10 min. em tampão Cacodilato de sódio 0,05 M e posterior fixação secundária em tetróxido de ósmio 1% (3 gotas/amostra) em tampão Cacodilato 0,05 M pH 7,2, por 1 hora. Após a segunda fixação, as sementes foram lavadas em água destilada por três vezes e submetidas à desidratação em série de acetona. O tempo de exposição das sementes às soluções foi de 10 minutos para cada concentração de acetona, em ordem crescente de concentração (25%, 50%, 75%, 90% e 100%). Uma vez desidratado, o material foi submetido à secagem ao ponto crítico no secador CPD 030 e posterior banho de ouro no evaporador SCD 050. A estrutura do endosperma foi avaliada por meio de eletromicrografias de varredura, segundo Alves (2004).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os resultados dos quadrados médios da análise de variância conjunta envolvendo duas épocas de semeadura, na qual se verificou diferença significativa no nível de 1% de probabilidade pelo Teste F para as seguintes variáveis: Peso de 100 sementes (g), Profundidade de Sementes (mm) e Produtividade (kg/ha). A interação entre época de semeadura e cruzamentos foi significativa para todas as variáveis analisadas.

Houve efeito significativo e positivo do alopolen no peso médio de 100 (cem) sementes para os híbridos DKB175pro e DKB175 quando polinizados pelo híbrido simples DKB390pro nas duas épocas de semeadura. Esses dados corroboram com os resultados observados por Andrade e Pereira (2005). Os autores estudaram o efeito xênia em híbridos comerciais de milho e observaram que para o peso médio de grãos houve aumento de 15% no híbrido XB8010 quando polinizado pelo alopolen do híbrido TORK.

No cruzamento do DKB390pro como polinizador do híbrido DKB175, houve acréscimo de 31% no peso médio de 100 (cem) sementes e 22% na produtividade final do DKB175 na primeira época de semeadura. Para a segunda época de semeadura, o DKB390pro, como polinizador, promoveu incrementos de 30% no peso médio de 100 (cem) sementes, 14% na profundidade de sementes e 43% na produtividade final. Assim, para o DKB175 quando polinizado pelo DKB390pro observou-se os maiores incrementos no peso de 100 (cem) sementes, profundidade de sementes e produtividade final nas duas épocas de semeadura quando comparados à testemunha (DKB175 X DKB175). Kiesselbach (1926) observou acréscimo de 35% da produtividade de milho quando foi utilizado o cruzamento sweet X dent comparado com sweet x weat.

Tabela 1 Quadrados médios e coeficientes de variação da análise de variância de peso de 100 sementes, profundidade de grãos e produtividade em Ingaí, safra 2011/2012 em duas épocas de semeadura

Fontes de Variação	GL	Peso 100 sementes (g)	Profundidade de sementes (mm)	Produtividade (kg/ha)
Genótipos	11	6387257**	157,8053**	150445741,4**
Épocas	1	116,204**	4,0858*	447321,4321**
Genótipos*Épocas	11	68,9046**	6,1457**	5287391,664**
Blocos	3	19,1135	1,1809	4431836,175
Erro	69	8,2467	1,8251	1471966,317
Médias		33,24	18,64	7806,65
CV%		8,64	7,25	15,54

** , *; Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Para o DKB175pro quando polinizado pelo DKB390pro foi observado acréscimo de 23% no peso de 100 (cem) sementes e não foi observado diferença significativa para profundidade de sementes na primeira época de semeadura. Hoekstra, Kannenberg e Christie (1985) e Pinter, Szabo e Horompoli (1987) observaram aumento no peso médio da semente por polinização cruzada somente quando os parentais eram significativamente diferentes no tamanho da semente.

No cruzamento do DKB390pro X DKB175pro, sendo o primeiro o polinizador, houve redução significativa da produtividade final na ordem de 28% na primeira época de semeadura. Neste cruzamento a queda de produtividade foi devido à problemas de polinização não sendo atribuída ao efeito xênia. Mas, vale ressaltar que Liu et al. (2010) observaram que, comparado com autopolinização, à fertilização cruzada entre os genótipos ND108 X HOC105 aumentou o rendimento de grãos na ordem de 10,7% em 2005 e 12,8% em 2006, enquanto que no cruzamento entre LY20 X HOC115 houve redução do rendimento de grãos 12,9% e 18,4%, respectivamente, em

2005 e 2006. Desse modo, a manifestação de xênia pode aumentar ou diminuir o desempenho de uma determinada linhagem ou híbrido, dependendo do polinizador utilizado.

Na primeira época de semeadura, para as linhagens L63 e L91 quando polinizadas pela L30 não foram observadas diferenças significativas, em relação às testemunhas, para peso de 100 (cem) sementes, profundidade de sementes e produtividade final, não caracterizando o efeito xênia. Para a segunda época de semeadura quando a L63 foi polinizada pela L30 houve acréscimo de 9% no peso médio de 100 (cem) sementes, redução de 18% na profundidade de sementes e redução de 46% na produtividade final. Essa redução na produtividade final ocorreu, principalmente, por problemas de polinização, não sendo atribuída ao efeito xênia.

Em sementes dos híbridos DKB175pro, DKB175 e DKB177 não foram observados diferenças significativas para profundidade de sementes quando polinizadas pelo DKB390pro, ocorrendo, portanto, ausência do efeito xênia na primeira época de semeadura. Na segunda época de semeadura, para os híbridos DKB175 e DKB175pro foram observados incrementos de 14% e 8% na profundidade de sementes, respectivamente. Neste caso, o efeito xênia ocorreu apenas na segunda época de semeadura, demonstrando, especificamente, que houve interação com a época de semeadura.

Para o híbrido DKB177 polinizado pelo DKB390pro, na segunda época de semeadura, observou-se redução significativa de 14% para produtividade final. Assim, pode-se afirmar que o efeito xênia reduziu a produtividade final de sementes neste cruzamento.

Tabela 2. Peso de 100 sementes(P 100), profundidade de sementes (PF), produtividade e efeito xênia em % (Xe) em duas épocas de semeadura(Híbrido e Linhagem da esquerda são doadores de pólen).

Cruzamentos	1ª Época		2ª Época		1ª Época		2ª Época		1ª Época		2ª Época	
	P 100 (g)	Xe	P 100 (g)	Xe	PF (mm)	Xe	PF (mm)	Xe	Produtivida de (Kg/ha)	Xe	Produtivida de (Kg/ha)	Xe
DKB390pro X DKB390pro	38,77b	–	35,86b	–	21,13a	–	22,37b	–	10030,28b	–	10935,83b	–
DKB175pro X DKB175pro	41,12b	–	36,16b	–	22,69a	–	22,90b	–	14407,86a	–	12738,05a	–
DKB390pro X DKB175pro	50,81a	23*	37,42a	3	21,24a	-6	24,67a	8*	10257,94b	-28*	12373,95a	-3
DKB175 X DKB175	36,68b	–	29,36d	–	21,43a	–	21,58b	–	8909,16c	–	8854,94c	–
DKB390pro X DKB175	48,30a	31*	38,30a	30*	22,70a	6	24,60a	14*	10843,33b	22*	12668,38a	43*
DKB177 X DKB177	40,93b	–	41,49a	–	21,26a	–	21,50b	–	10343,89b	–	12388,90a	–
DKB390 pro X DKB177	42,41b	3	39,14a	-6	21,64a	2	20,90b	-3	11388,55b	10	10696,41b	-14*
L30 X L30	18,82d	–	20,96e	–	11,91c	–	12,72d	–	4060,84d	–	1980,70e	–
L63 X L63	26,38c	–	28,83d	–	15,48b	–	16,05c	–	3561,11d	–	4308,32d	–
L30 X L63	27,73c	5	31,68c	9*	14,02b	-9	13,14d	-18*	3726,11d	5	2315,71e	-46*
L91 X L91	20,28d	–	20,81e	–	14,59b	–	12,18d	–	3572,71d	–	1866,14e	–
L30 X L91	19,89d	-2	25,7d	23*	15,04b	3	12,39d	2	3797,15d	6	1733,38e	-7

Nota: Realizado em Ingaí, 2012.

As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Os cruzamentos que apresentam valores de efeito xênia seguidos de asterisco (*) diferem do cruzamento polinizado em sib (testemunha) pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

Quanto à estrutura do endosperma, as eletromicrografias de varredura dos endospermas de sementes de milho de todos os cruzamentos e, bem como das respectivas testemunhas, encontram nas Figuras de 1 a 10.

Na Figura 1 encontra-se a estrutura do endosperma de sementes do cruzamento das linhagens L30XL91, e da testemunha L91XL91 produzidas na primeira época de semeadura. Observa-se modificação na estrutura do endosperma de sementes do cruzamento L30XL91 em relação à testemunha L91XL91. A estrutura do endosperma é mais heterogênea e os grânulos de amido são mais desuniformes em relação ao tamanho e mais compactados com menos espaços vazios em sementes do cruzamento L30XL91 do que nas da testemunha L91XL91. O mesmo foi observado quando as sementes foram produzidas na segunda época de semeadura (Figura 2).

Nas eletromicrografias do endosperma de sementes provenientes do cruzamento das linhagens L30XL63, não foram observados diferenças em sementes produzidas nas duas épocas de semeadura (Figuras 3 e 4).

A estrutura do endosperma de sementes do cruzamento DKB390pro X DKB175 é bem mais heterogênea e densa, apresentando grânulos de amido mais compactados quando comparado à testemunha nas duas épocas de semeadura (Figuras 9 e 10). Maiores acréscimos de peso de 100 (cem) sementes, profundidade de sementes e produtividade final também foi encontrado nesse cruzamento.

Nas Figuras 7 e 8 encontram-se as imagens da estrutura do endosperma em sementes do cruzamento DKB390pro X DKB175pro produzidas na primeira e segunda épocas de semeadura, respectivamente. Nestas sementes a estrutura do endosperma apresenta-se mais heterogênea com grânulos de amido maiores em relação a da testemunha. Nesse cruzamento foi observado acréscimo de 23% no peso médio de 100 (cem) sementes na primeira época de semeadura em relação a testemunha (DKB175pro X DKB175pro).

Em sementes do cruzamento do DKB390pro X DKB177, não foram observadas diferenças na estrutura do endosperma em nenhuma das épocas de semeadura em relação à testemunha, DKB177 X DKB177 (Figuras 5 e 6).

Por meio de eletromicrografias de varredura foi possível observar algumas diferenças na estrutura do endosperma das sementes, diferenças estas que podem influenciar na qualidade e na produtividade das sementes de determinados cruzamentos. Embora não tenha sido realizadas a quantificação de grânulos de amido e determinação do tamanho dos mesmos nesta pesquisa, uma estrutura mais heterogênea do endosperma, formada por grânulos de amido de tamanho variados e mais compactados, parece ter refletido positivamente sobre a produtividade das sementes em cruzamentos específicos.

Vale ressaltar que as alterações na estrutura do endosperma é um dos fatores que pode ser influenciado pelo alopólen e que pode estar relacionado com a produtividade das sementes de milho, mas nenhum mecanismo por si só é responsável por essas variações, sendo que cada componente é igualmente crítico, atuando em sinergismo. Apesar de serem determinados em cruzamentos específicos, a presença desses mecanismos pode ser intensificado, ou reduzido, de acordo com o meio ambiente no qual a semente foi desenvolvida e de acordo com processamento de pós-colheita das sementes (TANAKA, 2011).

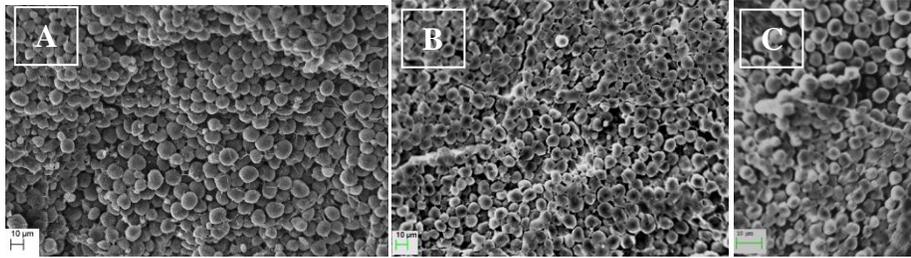


Figura 1 Endosperma da semente do cruzamento 30x91 (A), do parental feminino 91x91 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

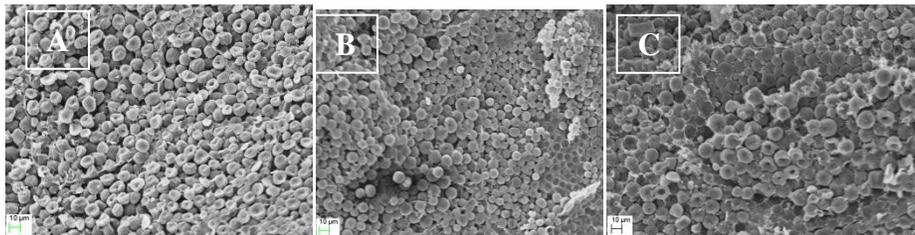


Figura 2 Endosperma da semente do cruzamento 30x91 (A), do parental feminino 91x91 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

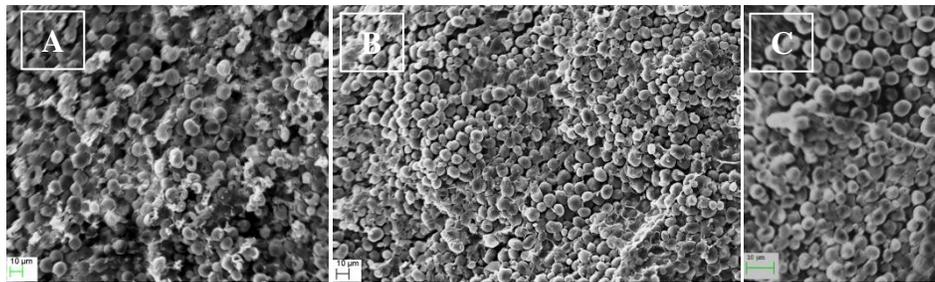


Figura 3 Endosperma da semente do cruzamento 30x63 (A), do parental feminino 63x63 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

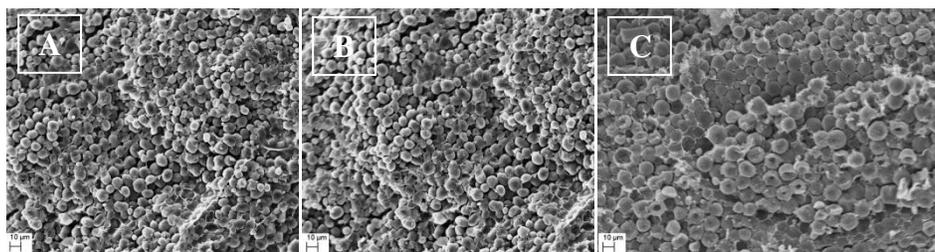


Figura 4 Endosperma da semente do cruzamento 30x63 (A), do parental feminino 63x63 (B) e do parental masculino 30x30 (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

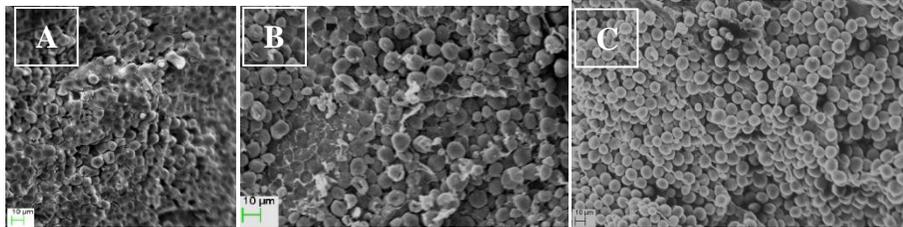


Figura 5 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB177 (A), do parental feminino DKB177 X DKB177 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

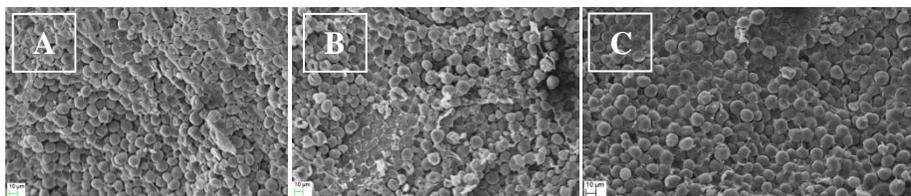


Figura 6 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB177 (A), do parental feminino DKB177 X DKB177 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

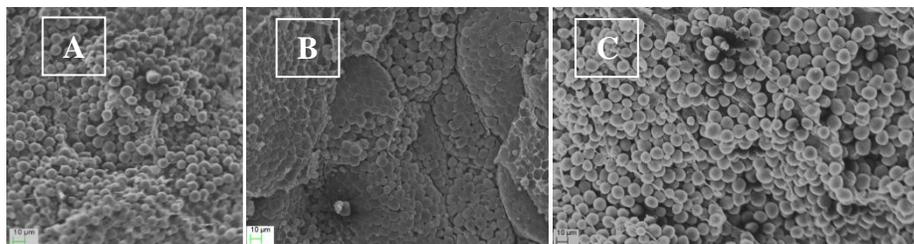


Figura 7 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175pro (A), do parental feminino DKB175pro X DKB175pro (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

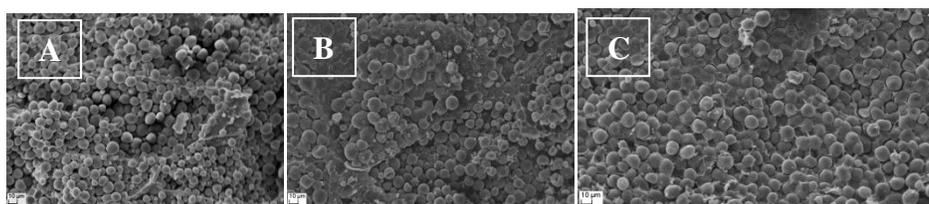


Figura 8 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175pro (A), do parental feminino DKB175pro X DKB175pro (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

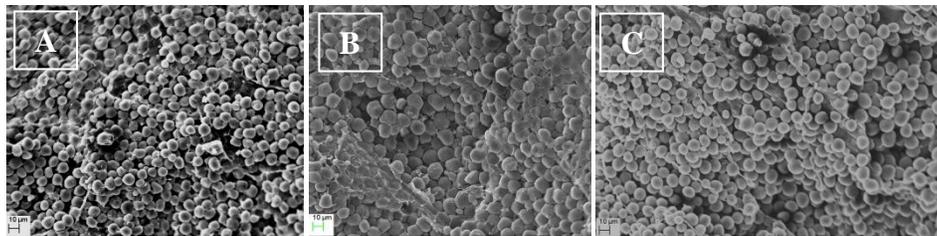


Figura 9 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175 (A), do parental feminino DKB175 X DKB175 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, primeira época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

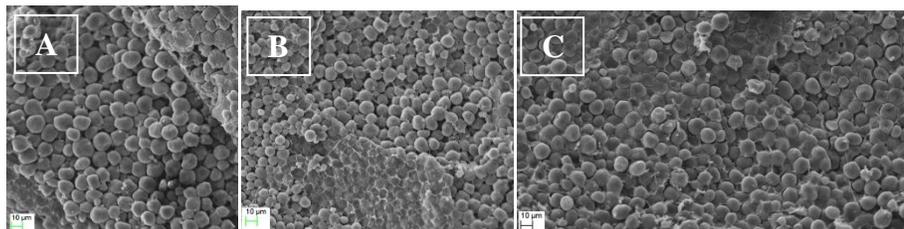


Figura 10 Endosperma da semente do cruzamento DKB390pro X DKB175 (A), do parental feminino DKB175 X DKB175 (B) e do parental masculino DKB390pro X DKB390pro (C), obtidos por Microscopia eletrônica de varredura, produzidos na safra 2011/12, segunda época de semeadura

Nota: Magnitude 16x. Lavras – MG, 2013.

4 CONCLUSÕES

O efeito xênia ocorre e altera o desempenho da produtividade de linhagens e híbridos de milho dependendo dos parentais envolvidos no cruzamento.

O efeito xênia sobre a estrutura do endosperma de sementes de milho varia com o polinizador utilizado em cruzamentos.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: FAEPE, 2004. 43 p. Apostila.
- ANDRADE, J. A. C. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays l.*). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 1, p. 65-78, jan./abr. 2005.
- BULANT, C. et al. Xenia effect in maize with normal endosperm: II., Kernel growth and enzyme activities during grain filling. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 182-189, Jan. 2000.
- BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I., importance and stability. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1517-1525, Dec. 1998.
- DAVARYNIJAD, G. H. et al. Relationship between pollen donors and quality of fruits of 12 apples cultivars. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POSTHARVEST TREATMENT OF HORTICULTURAL CROPS, 1., 1994, Keesdemet. **Proceedings...** Keeskemmet: Acta Horticulture, 1994. p. 344-354.
- DENNEY, J. O. Xenia includes metaxenia. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 7, p. 722-728, 1992.
- DOEHLERT, D. C.; LAMBERT, R. J. Metabolic characteristics associated with starch, protein and oil deposition in developing maize kernels. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 1, p. 151-157, Jan. 1991.
- 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. **Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.
- HOEKSTRA, G. J.; KANNENBERG, L. W.; CHRISTIE, B. R. Grain yield comparison of pure stands and mixtures of different proportions for two hybrids of maize. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 65, p. 481-485, 1985.

KETCHIE, D. O.; FAIRCHILD, E. D.; DRAKE, F. R. Viability of different pear pollen and the effect on fruit set of 'Anjou' pear (*Pyrus communis* L.). **Fruit Varieties Journal**, Urbana, v. 50, n. 2, p. 118-124, 1996.

KIESSELBACH, T. A. The immediate effect of gametic relationship and of parental type upon the kernel weight of corn. **Nebraska Agriculture Experimental Station Bulletin**, Nebraska, v. 33, p. 1-69, 1926.

LIU, Y. E. et al. Hormonal changes caused by the Xenia effect during Grain filling of normal corn and high oil corn crosses. **Crop Science Magazine**, Madison, v. 50, p. 215-221, Jan./Feb. 2010.

LUDERS, R. R. **Efeito xenia em híbridos comerciais de milho visando ao aumento da produtividade**. 2006. 125 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

LUDERS, R. R. et al. Aumento de produtividade por meio de marcadores microssatélites. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 603-611, 2008.

MERCER, J.; RAMALHO, M. A. P.; RAPOSO, F. V. Implicações do fenômeno xênia nos programas de melhoramento de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1338-1343, nov./dez. 2002.

MIZRAHI, Y. et al. Metaxenia in the vine cacti *Hylocereus polyrhizus* and *Selenicere spp.* **Annals of Botany**, Oxford, v. 93, n. 4, p. 469-472, 2004.

PINTER, L.; SZABO, J.; HOROMPOLI, E. Effect of metaxenia on the grain weight of the corn (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v. 32, p. 81-88, 1987.

SEKA, D.; CROSS, H. Z. Xenia and maternal effects on maize kernel development. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 80-85, Jan./Feb. 1995.

TANAKA, W. Pollen source effects on growth of kernel structures and embryo chemical compound in maize. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 666-667, 2011.

TSAI, C. L.; TSAI, C. Y. Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 4, p. 804-808, July 1990.

VEIT, B. et al. Maize floral development: new genes and old mutants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1205-1215, Oct. 1993.

WEILAND, R. T. Cross-pollination effects on maize (*Zea mays* L.) hybrid yields. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 72, n. 1, p. 27-33, Jan. 1992.

YAMADA, M.; SUENGA, K.; NIKAJIMA, K. Heterosis in plants started immediately after fertilization. In: OTTAVIANO, E. et al. (Ed.). **Angiosperm pollen and ovules**. New York: Springer, 1992. p. 426-434.

CAPÍTULO 3 Efeito do pólen sobre a qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de milho

RESUMO

Na literatura são escassos os trabalhos relacionados ao efeito do pólen na qualidade de sementes de milho. Neste trabalho objetivou-se verificar o efeito do parental masculino sobre a qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de milho. Foram utilizados quatro híbridos simples e três linhagens puras com boas características agronômicas. O experimento foi conduzido em duas épocas de semeadura (25/11/2011 e 15/12/2011). No primeiro ensaio foram produzidas as sementes a partir dos cruzamentos dos híbridos simples: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. O segundo ensaio foi conduzido a 100 m de distância do primeiro e foram produzidas as sementes a partir dos cruzamentos das linhagens: L30 X L91; L30 X L63. Sementes dos híbridos DKB177, DKB 175, DKB175pro, DKB390pro e as linhagens L63, L91 e L30 foram produzidas em campo isolado à 100 m de qualquer outro polinizador, constituindo os tratamentos testemunhas. As sementes foram submetidas aos seguintes testes: germinação; envelhecimento acelerado e índice de velocidade de germinação. Também foi avaliado a atividade da enzima α -amilase nas sementes de milho. Os maiores incrementos de germinação e vigor foram observados no cruzamento da linhagem L30 com a Linhagem L91. Maiores incrementos na atividade da enzima α -amilase foi observado nos cruzamentos em que linhagem L30 foi utilizada como polinizador. A qualidade fisiológica de sementes de milho e a expressão da enzima α -amilase são influenciados pelo parental masculino utilizados em cruzamentos.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Cruzamentos. Qualidade de sementes.

CHAPTER 3 Pollen Effect on Physiological Quality and Enzymatic Activity of maize kernels

ABSTRACT

Studies related to the effect of pollen on maize seed quality are scarce in literature. This work aimed at verifying the male parent effect in the physiological quality and enzymatic activity of maize seeds. Four single hybrids and three inbred lines with good agronomic characteristics were used. The experiment was conducted in two sowing dates (11/25/2011 and 12/15/2011). In the first trial were produced seeds from the crosses of single hybrids: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. The second trial was installed at 100 m from the first, and produced seeds from the crossing of lines: L30 X L91, L30 X L63. Seeds from hybrids DKB177, DKB 175, DKB175pro, DKB390pro and the inbred lines L63, L91 and L30 were produced in an isolated field at 100m from any other pollinator, constituting the witness treatment. The seeds were subjected to Germination Test, Accelerated Aging and Germination Speed Index. We also evaluated the activity of α -amylase enzyme on the maize seeds. The largest increments in germination and vigor were observed in the crossing of line L30 with line L91. The largest increments in α -amylase enzyme activity were observed in the crossings in which line L30 was used as pollinator. The physiological quality of the maize seeds and the expression of α -amylase enzyme are influenced by the male parent used in the crossings.

Keywords: *Zea mays* L. Crossings. Seeds quality.

1 INTRODUÇÃO

O uso de sementes de qualidade é de fundamental importância para o sucesso de cultivo de qualquer espécie vegetal. O custo com sementes representa baixo valor comparado com o custo total de produção e a semente de boa qualidade é responsável por grande parte do rendimento de uma lavoura.

Os padrões de qualidade adotados pelas empresas produtoras de sementes são mais rígidos do que os estabelecidos pelos órgãos oficiais do governo, principalmente devido a demanda crescente de mercado por sementes de alta qualidade e a competitividade entre as empresas produtoras de sementes.

Nos programas de melhoramento de milho o foco é o aumento de produtividade com uma pequena atenção para qualidade de sementes (ECHARTE et al., 2000; EDMEADES et al., 1993; LUQUE et al., 2006; TOLLENAAR; LEE, 2002).

O efeito do alopolên entre genótipos de milho pode contribuir para melhorar a qualidade de sementes de milho como relatado em algumas pesquisas.

De acordo com os resultados observados por Mercer, Ramalho e Raposo (2002) o efeito do alopolên na cultura do milho promove acréscimos no peso de sementes, porcentagem de germinação e peso seco de plantas. Resultados semelhantes também foram encontrados por Bullant e Gallis (1998) e Tsai e Tsai (1990).

Cultivares de milho com alta concentração de óleo (HOC) normalmente contém 60 a 80 g/kg de óleo na matéria seca. Na criação de bovinos tanto para a produção de leite quanto para a produção de carne o produtor prefere HOC como ingrediente para a formulação de rações pois as sementes contém aproximadamente 4,5% mais energia do que as sementes de cultivares normais

de milho, e pode substituir fontes mais caras de energia e proteína (ALEXANDER, 1988).

Nos Estados Unidos o sistema TOP CROSS (TOC) é utilizado para produzir milho com 6,5 g/Kg a mais de teor de óleo na matéria seca (UNITED STATES GRAINS COUNCIL, 2002). No sistema TOP CROSS, apolinização cruzada é utilizada para promover ganhos no peso e qualidade de sementes de milho (STRACHAN; KAPLAN, 2001). Portanto, principalmente, para peso de sementes, o alopolén pode melhorar ou piorar o desempenho de linhagens e híbridos de milho dependendo do polinizador utilizado (LIU et al., 2010).

Embora tenha sido encontrado poucos estudos na literatura acredita-se que possa ocorrer importantes mudanças metabólicas e bioquímicas nas sementes de milho provenientes da polinização pelo alopolén. Wang et al. (2009) observaram que a taxa de fotossíntese na folha é maior em híbridos normais polinizados por híbridos com alto conteúdo de óleo e que a concentração de óleo em híbridos normais sempre aumenta quando polinizados por híbridos com alto conteúdo de óleo por causa da polinização pelo alopolén.

Em algumas pesquisas também tem sido observado a expressão diferenciada de enzimas, a exemplo da α -amilase, em sementes de linhagens e híbridos de milho em diferentes níveis de qualidade fisiológica (FRANCO et al., 2002).

Desse modo, é oportuno verificar possíveis modificações na atividade da enzima α -amilase que pode estar associada à qualidade de sementes de milho.

São escassos os trabalhos na literatura relacionados com efeito do pólen na qualidade de sementes de milho. Mais esclarecimentos nesta área podem ser úteis na seleção de linhagens de milho para obtenção de sementes híbridas de melhor qualidade.

Na presente pesquisa objetivou-se estudar a influência do parental masculino, utilizado em cruzamentos, sobre a qualidade fisiológica e na expressão da enzima α -amilase em sementes de milho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das sementes

O experimento, para a produção de sementes, foi instalado na fazenda Taquaral em Ingaí, situado a 21°25' Latitude Sul, 44°55' Longitude Oeste e altitude de 910 m, no estado de Minas Gerais. A temperatura média anual e a precipitação foram de 19,2 °C de 1629,7 mm. As análises de laboratório foram conduzidas no Laboratório Central de Sementes (LAS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

O experimento foi conduzido juntamente com a lavoura comercial de milho em uma área plana e homogênea de 10 ha. A instalação do ensaio ocorreu 25 dias após o plantio da lavoura comercial a fim de se evitar coincidência de florescimento entre o experimento e a lavoura.

As sementes de híbridos duplos foram produzidas a partir dos seguintes cruzamentos de híbridos simples: DKB390pro X DKB177; DKB390pro X DKB175; DKB390pro X DKB175pro. Para a produção de sementes de híbridos simples foi utilizado o isolamento espacial de 100 m de distância do campo de produção de híbridos duplos, a fim de se evitar a contaminação genética, e as sementes foram produzidas a partir dos cruzamentos das seguintes linhagens: L30 X L91; L30 X L63. Foram produzidas sementes dos híbridos DKB177, DKB 175, DKB175pro, DKB390pro e das linhagens L63, L91 e L30 em área isolada a 100 m de fontes de polinização, constituindo os tratamentos testemunhas e totalizando 12 tratamentos. A semeadura foi realizada em duas épocas, 25/11/2011 e 15/12/2011, sob o sistema de plantio direto.

Foi realizada a adubação de 400 Kg/ha da fórmula 8-28-16 de N-P2O5-K2O + Zn na semeadura e, em cobertura, com 400 kg/ha da fórmula 30-00-20 de N-P2O5-K2O, no estágio fenológico V4 (4 folhas totalmente expandidas). Os

demais tratos culturais foram os normalmente recomendados para a cultura do milho no sistema de plantio direto (LUDERS, 2006).

Cada parcela constou de quatro linhas de dez metros, espaçadas de 0,80 m entre si e 0,20 m entre plantas. As plantas das duas linhas centrais de cada parcela foram despendoadas para receber o pólen do parental masculino e as duas linhas laterais foram os doadores de pólen (polinizador). O ensaio foi instalado em delineamento de blocos casualizados (DBC) com quatro repetições. Vale ressaltar que os genótipos envolvidos nos cruzamentos apresentaram coincidência total de florescimento.

Após secagem, as sementes foram debulhadas manualmente e armazenadas em câmara fria até a realização das análises, no setor de sementes da Universidade Federal de Lavras.

As sementes foram tratadas com o fungicida Vitavax-Thiran 200 SC na dosagem de 250 ml/100 Kg de sementes. As sementes foram submetidas aos testes de germinação e vigor e também foram avaliadas em relação à expressão da enzima α -amilase.

2.2 Teste de Germinação

O teste de germinação foi realizado com 50 sementes provenientes de cada parcela de campo, totalizando 4 repetições e 200 sementes para cada tratamento. As sementes foram semeadas em papel tipo Germitest umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel, visando umedecimento adequado e uniformização do teste. As sementes permaneceram no germinador regulado para 27 °C. As avaliações foram feitas aos 4 dias (primeira contagem) e 7 dias (contagem final) após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais seguindo os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

2.3 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, 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).

2.4 Índice de Velocidade de Germinação

A obtenção do índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizada durante o teste de germinação, conforme Maguire (1962) de acordo com a fórmula: $IVG = G1/ N1 + G2/ N2 + \dots + Gn /Nn$; onde IVG = índice de velocidade de germinação; G1, G2, Gn = número de sementes germinadas computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem. As avaliações foram diárias e realizadas sempre no mesmo horário até o 7º dia após a semeadura.

2.5 Envelhecimento acelerado

O método utilizado foi o de mini câmaras do tipo "gerbox", em que 42 g de sementes foram distribuídas sobre uma tela suspensa no interior da caixa

contendo 40 mL de água e submetidas a temperatura de 42 °C. Em seguida, foi realizado o teste de germinação (VIEIRA; CARVALHO, 1994) com 4 repetições para cada tratamento.

2.6 Análise eletroforética da enzima α -amilase

Com base nos resultados em pesquisas anteriores, dez 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 (± 5 °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 h 30 min., 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).

2.7 Procedimento Estatístico

O delineamento utilizado para a instalação do experimento de campo foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Nos testes realizados para a

avaliação da qualidade fisiológica das sementes foram mantidas as repetições de campo e, portanto o delineamento utilizado foi o de blocos casualizados.

Para cada característica determinada, foi calculado o efeito Xênia, pela expressão utilizada por Andrade (2005).

$$Xe = \frac{100(HsX - Hs\Theta)}{Hs\Theta}$$

Sendo:

Xe(%): efeito Xênia em porcentagem;

HsX: produção dos cruzamentos pelo alopólen;

Hs Θ : produção dos cruzamentos *sib* (parental feminino polinizado por si próprio).

Os dados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância individual em cada época separadamente. A princípio, foram realizados os testes de aditividade dos efeitos do modelo e a normalidade dos erros. Não havendo nenhuma restrição a essas pressuposições, foram realizadas as análises de variâncias individuais. De posse dos resultados dessas análises também foi verificada a pressuposição de homogeneidade de variâncias pelo teste de Hartely, utilizado por Gomes (1990), o qual se baseia na divisão do maior quadrado médio do resíduo pelo menor quadrado médio do resíduo das análises individuais. Sendo o valor resultante inferior a sete, infere-se homogeneidade de variâncias, o que possibilitou a análise conjunta dos experimentos. Assim, os dados de cada variável, obtidos em cada época de semeadura, foram submetidos a uma análise de variância conjunta.

Foi realizada a análise de variância para todas as variáveis, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000). Para a comparação entre as médias, foi utilizado o Teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade e todo cruzamento que diferiu de seu genitor feminino polinizado por si próprio

("sib") foi considerado como apresentando efeito do parental masculino (pólen) significativo. Desta maneira considerou-se que todos os híbridos polinizados por ele mesmo não apresentaram efeito do parental masculino (pólen).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 3, houve diferença significativa da interação de épocas de semeadura com genótipos para todas as fontes de variação.

Os valores de germinação e vigor avaliados por meio dos testes de germinação, envelhecimento acelerado, teste frio e índice de velocidade de germinação, de modo geral, nas duas épocas de semeadura, foram elevados indicando que as sementes tinham alta qualidade fisiológica (Tabela 4).

Foi observado o efeito do parental masculino na segunda época de semeadura em sementes do cruzamento L30XL91, em que a linhagem L30 como polinizador promoveu acréscimos de 7% na germinação de sementes quando comparado com a testemunha (L91XL91). Mercer, Ramalho e Raposo (2002) observaram que em média a porcentagem de germinação de sementes de milho oriundas do alopólen foi 8,1% acima das autofecundadas. Já no trabalho desenvolvido por Martins et al. (2008) com sementes de mamão não houve acréscimo na porcentagem de germinação de sementes provenientes do alopólen comparadas com sementes provenientes de autofecundação.

Para o índice de velocidade de germinação (IVG), no cruzamento L30XL91, tendo a linhagem L30 como polinizador, foram observados acréscimos de 12% na primeira época de semeadura e 15% na segunda época de semeadura, ou seja, foi observado maior acréscimo no vigor de sementes no cruzamento L30XL91.

Para as sementes do híbrido DKB175 quando polinizado pelo DKB390pro foi observado acréscimo de 5% no índice de velocidade de germinação de sementes na primeira época de semeadura e acréscimo de 10% na segunda época de semeadura. Maiores acréscimos nos valores de peso de 100 (cem) sementes, profundidade de sementes e produtividade final foram observados neste cruzamento (Tabela 2).

Tabela 1 Quadrados médios e coeficientes de variação da análise de variância de % de germinação, envelhecimento acelerado, teste frio e índice de velocidade germinação em Ingaí, safra 2011/2012.

Fontes de Variação	GL	Germinação	EA	TF	IVG
Cruzamentos	11	10,7106**	38,6597**	96,7059*	4,8703**
Épocas	1	12,5209*	238,5812**	99,6750*	43,4704**
Cruzamentos*Épocas	11	14,3672**	63246**	98,7091*	2,2030**
Blocos	3	3,6675	11,4506	7,4433	0,9929
Erro	69	3,9951	10,8114	50,0580	0,375
Médias		98,47	96,63	96,49	14,93
CV%		2,03	3,4	7,69	4,1

** , *; Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Na segunda época de semeadura, incrementos de 7% na germinação de sementes, 13% na germinação de sementes submetidas ao teste de frio, 16% na germinação de sementes submetidas ao teste de envelhecimento acelerado e 15% no índice de velocidade de germinação foram observados em sementes do cruzamento L30XL91, tendo a linhagem L30 como polinizador. Isso ocorreu, principalmente, porque as sementes da Linhagem L91 avaliada como testemunha (L91XL91), na segunda época de semeadura, apresentaram baixa qualidade fisiológica.

Por outro lado sementes do cruzamento das linhagens , L30XL63, tendo como polinizador também a linhagem L30, apresentaram decréscimo na ordem de 8% na germinação de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado. Ou seja, a polinização pelo alopólen pode melhorar ou piorar o desempenho da germinação e do vigor de sementes de milho dependendo dos parentais envolvidos.

Liu et al. (2010), examinando os níveis de hormônios durante o desenvolvimento da semente para determinar seus efeitos na divisão de células do endosperma no enchimento de grãos e peso de sementes de milho, observou

que comparado com autopolinização à fertilização cruzada entre os genótipos ND108 X HOC105 aumentou a germinação de sementes 8,1% em 2005 e 6% em 2006, enquanto que a polinização cruzada entre os genótipos LY20 X HOC115 diminuiu a germinação de sementes 7,2% e 12,5%, respectivamente, em 2005 e 2006. Desse modo, o efeito do parental masculino altera o desempenho de uma determinada linhagem ou híbrido de milho em cruzamentos, dependendo do polinizador utilizado.

Tabela 2 Porcentagem de germinação (%G), teste frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), índice de velocidade de germinação (IVG) e efeito do alopólen em % (P) nas duas épocas de semeadura (Híbrido e Linhagem da esquerda são doadores de pólen).

Cruzamentos	1ª Época		2ª Época		1ª Época		2ª Época		1ª Época		2ª Época		1ª Época		2ª Época	
	%G	P	%G	P	TF	P	TF	Xe	EA	P	EA	P	IVG	P	IVG	P
DKB390pro X DKB390pro	98a	_	99a	_	95,5a	_	98,5a	_	98,5a	_	97,5b	_	15,67a	_	14,61a	_
DKB177 X DKB177	99a	_	99a	_	98,5a	_	96,5a	_	98a	_	96b	_	16,12a	_	15,03a	_
DKB390pro X DKB177	99a	0	98a	-1	98,5b	0	97Aa	1	97,5a	-1	96b	0	16,22a	1	15,6a	4
DKB175 X DKB175	99a	_	99a	_	97,5a	_	95,5a	_	97,5a	_	95b	_	14,97b	_	13,49b	_
DKB390pro X DKB175	99a	0	99,5a	1	98a	1	99,5a	4	94,5a	-3	99,5b	5	15,67a	5*	14,89a	10*
DKB175pro X DKB175pro	98a	_	97,5a	_	99,5a	_	94,5a	_	99a	_	94b	_	14,68b	_	14,65a	_
DKB390pro X DKB 175pro	99a	1	100a	3	98a	-2	97a	3	99a	0	99b	5	15,56a	6*	15,16a	3
L30 X L30	99a	_	100a	_	99a	_	97,33a	_	98a	_	98,83a	_	15,83a	_	14,75a	_
L63 X L63	100a	_	99a	_	99,5a	_	98a	_	99a	_	97,5b	_	15,69a	_	14,67a	_
L30 X L63	99a	-1	98a	-1	98,5a	-1	94,66a	-3	99a	0	90b	-8*	15,93a	2	14,04a	-4
L91 X L91	99,5a	_	91b	_	99,5a	_	86,5b	_	99,5a	_	82c	_	14,58b	_	11,22c	_
L30 X L91	99a	-1	97,22a	7*	99a	-1	98a	13*	99a	-1	95,33a	16*	16,33a	12*	12,91b	15*

Nota: Realizado em Ingaí, 2012.

As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Os cruzamentos que apresentam valores de efeito do alopólen seguidos de asterisco (*) diferem do cruzamento polinizado em sib (testemunha) pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

A expressão da enzima α -amilase se encontra nos zimogramas apresentados nas Figuras 11 e 12. A atividade dessa enzima pode ser evidenciada pelas bandas acromáticas em fundo azulado, tratando-se de uma revelação negativa, presente nos locais onde o amido foi hidrolisado.

Houve variação na expressão da enzima α -amilase em sementes provenientes de diferentes combinações híbridas. Observa-se alta atividade desta enzima em sementes da linhagem L30, numeração 3 do zimograma, tanto na primeira como na segunda época de semeadura. Alta qualidade fisiológica determinada pelos testes de germinação e vigor também foi observado em sementes da linhagem L30. Para as sementes do cruzamento L30XL91 (numeração 1) houve acréscimo da atividade da enzima α -amilase em comparação com a testemunha L91XL91 (numeração 4 no zimograma). Maiores acréscimos nos valores de germinação e vigor foram observados em sementes do cruzamento L30XL91 na segunda época de semeadura. Maior efeito do parental masculino para índice de velocidade de germinação (IVG) foi observado em sementes do cruzamento L30XL91 nas duas épocas de semeadura. Lopes e Lakins (1993) comentaram que após a polinização ocorre 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 dos genótipos envolvidos no cruzamento. Sendo assim, a polinização pelo alopólen altera o desempenho na atividade da enzima α -amilase em sementes de milho.

Para as sementes do cruzamento L30XL63 (numeração 2) também houve acréscimo da atividade da enzima α -amilase comparado com a testemunha L63XL63 nas duas épocas de semeadura. Para a atividade da enzima α -amilase nos cruzamentos com a linhagem L30 como polinizador, os padrões enzimáticos geralmente foram semelhantes aos do parental masculino.

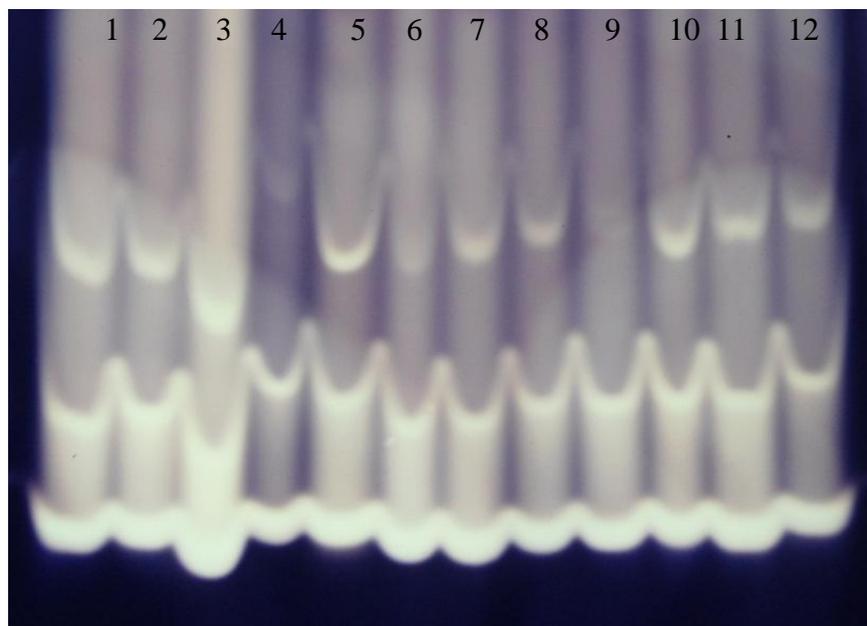


Figura 1 Padrões isoenzimáticos de sementes híbridas de milho produzidas na safra 2011/12 na primeira época de semeadura, revelados para a α -amilase

Nota: Numerais no topo da Figura representam os cruzamentos; 1 (L30 X L91), 2 (L30 X L63), 3 (L30 X L30), 4 (L91 X L91), 5 (L63 X L63), 6 (DKB390PRO X DKB177), 7 (DKB390PRO X DKB175PRO), 8 (DKB390PRO X DKB175), 9 (DKB390PRO X DKB390PRO), 10 (DKB175 X DKB175), 11 (DKB175PRO X DKB175PRO), 12 (DKB177 X DKB177). UFLA, Lavras - MG, 2012.

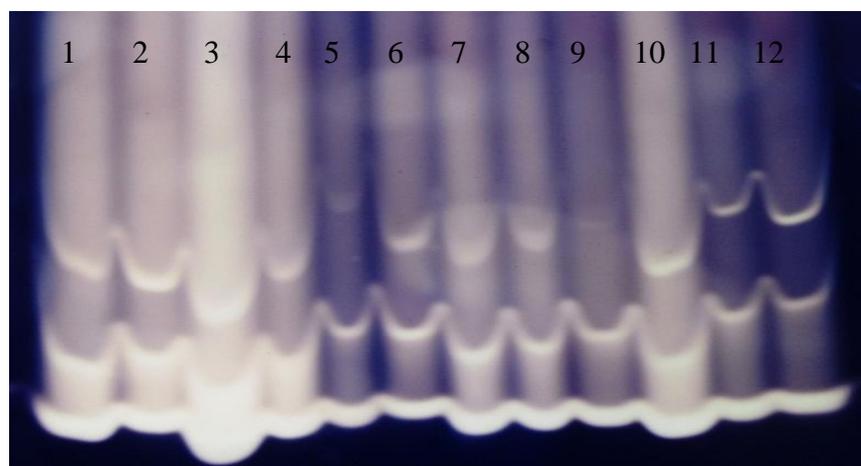


Figura 2 Padrões isoenzimáticos de sementes híbridas de milho produzidas na safra 2011/12 na segunda época de semeadura, revelados para a α -amilase

Nota: Numerais no topo da Figura representam os cruzamentos; 1 (L30 X L91), 2 (L30 X L 63), 3 (L30 X L30), 4 (L63 X L63), 5 (L91 X L91), 6 (DKB390PRO X DKB177), 7 (DKB390PRO X DKB175PRO), 8 (DKB390PRO X DKB175), 9 (DKB390PRO X DKB390PRO), 10 (DKB175 X DKB175), 11 (DKB175PRO X DKB175PRO), 12 (DKB177 X DKB177). UFLA, Lavras - MG, 2012.

A planta de milho é formada a partir do zigoto que possui 50% da informação dos cromossomas de origem paterna e 50% de origem materna. Já no endosperma, 66,6% dos cromossomas são de origem materna e 33,3%, paterna (VEIT et al., 1993). No entanto, Groszmann e Sprague (1948), comparando a taxa de crescimento das diferentes partes de sementes de milho, constataram que o efeito do cruzamento entre parentais não pode ser atribuído ao balanço do conjunto cromossômico proveniente do genitor feminino e masculino, mas sim à ação de genes específicos.

Na segunda época de semeadura maior atividade da enzima α -amilase pode ser observado em sementes do cruzamento DKB390proXDKB175pro em relação a testemunha. Menor atividade da enzima α -amilase foi observado em

sementes do cruzamento do DKB390ProXDKB175 em relação a testemunha. Sendo assim, o efeito do parental masculino pode aumentar ou diminuir a atividade da enzima α -amilase em sementes de milho dependendo do polinizador utilizado no cruzamento.

Ressalta-se que em sementes da linhagem L30 há maior expressão da enzima α -amilase. Esta linhagem, quando utilizada como polinizador, propicia o aumento da expressão desta enzima e da qualidade fisiológica das sementes híbridas.

4 CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica de sementes de milho e a expressão da enzima α -amilase são influenciados pelo parental masculino utilizados em cruzamentos.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, D. E. Breeding nutritional and industrial types. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J. W. (Ed.). **Corn and corn improvement**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1988. p. 869-880.
- ALFENAS, A. C. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242 p.
- ALVES, E. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: FAEPE, 2004. 43 p. Apostila.
- ANDRADE, J. A. C. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays L.*). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 1, p. 65-78, jan./abr. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I., importance and stability. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1517-1525, Dec. 1998.
- DIAS, M. C. L. de; BARROS, A. S. do R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1995. 41 p. (Circular, 88).
- ECHARTE, L. et al. Response of maize kernel number to plant density in Argentinean hybrids attributable to greater stress tolerance. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1597-1604, 1995.
- EDMEADES, G. O. et al. Selection improves water stress tolerance to mid/late season water stress in tropical maize populations: I., gains in biomass, grain yield, and harvest index. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1306-1315, 1993.
- 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. **Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.
- FRANCO, M. C. et al. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso americano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1145-1150, ago. 2002.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.

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

LIU, Y. E. et al. Hormonal changes caused by the Xenia effect during Grain filling of normal corn and high oil corn crosses. **Crop Science Magazine**, Madison, v. 50, p. 215-221, Jan./Feb. 2010.

LOPES, U.; LAKINS, J. S. Evaluating drying injury on corn seed with a conductivity test. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 17, n. 1, p. 625-638, 1993.

LUDERS, R. R. **Efeito xenia em híbridos comerciais de milho visando ao aumento da produtividade**. 2006. 125 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

LUQUE, R. M. et al. Evidence that endogenous somatostatin (SST) inhibits adrenocorticotropin (ACTH) and ghrelin expression by independent pathways. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v. 291, p. E395-E403, 2006. Supplement.

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

MARTINS, G. N. et al. Influência do repouso pós-colheita de frutos na qualidade fisiológica de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 142-146, 2008.

MERCER, J.; RAMALHO, M. A. P.; RAPOSO, F. V. Implicações do fenômeno xênia nos programas de melhoramento de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1338-1343, nov./dez. 2002.

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.

STRACHAN, S. D.; KAPLAN, S. L. Responses of high oil corn to rootworm beetles during pollination. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 5, p. 1043-1048, Sept. 2001.

TANAKA, W. Pollen source effects on growth of kernel structures and embryo chemical compound in maize. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 666-667, 2011.

TOLLENAAR, M.; LEE, E. A. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 75, n. 1, p. 161-169, Feb. 2002.

TSAI, C. L.; TSAI, C. Y. Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 4, p. 804-808, July 1990.

UNITED STATES GRAINS COUNCIL. **2001-2002 value enhanced grain quality report**. Washington, 2002. 14 p.

VEIT, B. et al. Maize floral development: new genes and old mutants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1205-1215, Oct. 1993.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.

WANG, R. F. et al. Leaf photosynthesis is enhanced in normal oil maize pollinated by high oil maize hybrids. **Industrial Crops & Products**, London, v. 29, n. 1, p. 82-88, Jan. 2009.