

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JÚLIA CAMARGOS DA COSTA

**TOLERÂNCIA AO RETARDAMENTO DE SECAGEM EM SEMENTES HÍBRIDAS  
DE MILHO EM FUNÇÃO DOS PARENTAIS E DA TEMPERATURA**

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2020

JÚLIA CAMARGOS DA COSTA

**TOLERÂNCIA AO RETARDAMENTO DE SECAGEM EM SEMENTES HÍBRIDAS  
DE MILHO EM FUNÇÃO DOS PARENTAIS E DA TEMPERATURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

C837t  
2020 Costa, Júlia Camargos da, 1995  
Tolerância ao retardamento de secagem em sementes híbridas de milho em função dos parentais e temperatura [recurso eletrônico] / Júlia Camargos da Costa. - 2020.

Orientador: Everson Reis Carvalho.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.3313>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Carvalho, Everson Reis, 1986, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

---

CDU: 631

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
 Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppga.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 004/2020 PPGAGRO				
Data:	Sete de fevereiro de dois mil e vinte	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:00
Matrícula do Discente:	11812AGR013				
Nome do Discente:	Júlia Camargos da Costa				
Título do Trabalho:	Tolerância ao retardamento de secagem em sementes híbridas de milho em função dos parentais e temperatura				
Área de concentração:	Fitotecnia				
Linha de pesquisa:	Produção Vegetal em Áreas de Cerrado				

Reuniu-se na sala 212, bloco 1CCG, Campus Glória, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Hugo César Rodrigues Moreira Catão - UFU; Gabriel Mascarenhas Maciel - UFU; Izabel Costa Silva Neta - Hélix Sementes; Everson Reis Carvalho - UFU orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Everson Reis Carvalho, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **Gabriel Mascarenhas Maciel, Professor(a) do Magistério Superior**, em 10/02/2020, às 12:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Everson Reis Carvalho, Usuário Externo**, em 10/02/2020, às 14:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão, Professor(a) do Magistério Superior**, em 10/02/2020, às 14:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Izabel Costa Silva Neta, Usuário Externo**, em 10/02/2020, às 15:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1858622** e o código CRC **D9D9FC36**.

JÚLIA CAMARGOS DA COSTA

**TOLERÂNCIA AO RETARDAMENTO DE SECAGEM EM SEMENTES HÍBRIDAS  
DE MILHO EM FUNÇÃO DOS PARENTAIS E DA TEMPERATURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 07 de fevereiro de 2020.

Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

UFU

Prof. Dr. Hugo César Rodrigues Moreira Catão

UFU

Eng. <sup>a</sup> Agr. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Izabel Costa Silva Neta

Hélix Sementes

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho

UFLA

(Orientador)

UBERLÂNDIA

MINAS GERAIS – BRASIL

2020

Aos meus pais,  
Divino da Costa Sobrinho e Silvanda Fernandes de Camargos,  
À minha irmã,  
Juliana Luzia Camargos da Costa,  
Ao meu noivo,  
Rafael Augusto Martins,  
Ofereço e dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça e pelo dom da vida, pela saúde, pelo discernimento, pela persistência e pela resiliência.

Aos meus amados pais, Divino e Silvanda, pelo apoio financeiro, fraterno, braçal e espiritual, essencial no cumprimento de mais esta etapa em minha formação acadêmica.

À minha amada irmã, Juliana, a qual não mediu esforços e sempre esteve de prontidão a me ajudar, mesmo saindo de sua zona de conforto.

Ao meu amado noivo, Rafael, pelo respeito, compreensão e auxílio.

Aos meus familiares e amigos, que compreenderam minha ausência em diversos momentos e torceram pelo título de mestre junto a mim.

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Umuarama e campus Glória, pela oportunidade de aperfeiçoar meu conhecimento através de um corpo acadêmico qualificado e competente. À UFU, campus Patos de Minas, em especial ao professor Guilherme e à técnica de laboratório Karla, pelo acolhimento e pela disponibilidade dos laboratórios para a condução dos ensaios.

Ao professor e orientador Dr. Everson Reis Carvalho, muito obrigada pela disponibilidade, atenção, dedicação e compromisso.

À empresa Hélix Sementes, em nome das pessoas Lucas Lira, Izabel Silva Costa Neta e Felipe Faria, que me receberam de portas abertas para a condução de meus ensaios. Obrigada pela confiança depositada. Agradeço também a toda equipe que trabalha na empresa, nos setores de recepção, escritório, limpeza, beneficiamento de sementes, controle de processos, laboratório de análises de sementes, pesquisa, estágios e demais setores.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, em especial ao Setor de Sementes, pela oportunidade de realização dos testes enzimáticos. Concomitantemente, agradeço à professora Dra. Heloísa Oliveira dos Santos e a seu orientando de doutorado Pedro Cavasin, pelo auxílio durante a condução dos testes.

Aos antigos e novos amigos que conviveram comigo diariamente durante as aulas de Pós-graduação, em especial os colegas Bruno Bernardes, Nayara Cecília, Morais Carneiro, Luciano Dias, Débora Kelli, Salmo Júnior, Mauro Pinheiro e Ronaldo Pinheiro.

Aos membros da banca, Prof. Dr. Gabriel Maciel, Prof. Dr. Hugo Catão e Eng. <sup>a</sup> Agr. <sup>a</sup> Izabel Neta, pela disponibilidade.

A todos aqueles que, de alguma forma, me ajudaram durante esse período, mesmo que não citados aqui, meus agradecimentos!

MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

COSTA, Júlia Camargos da. **Tolerância ao retardamento de secagem em sementes híbridas de milho em função dos parentais e da temperatura.** 2020. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020<sup>1</sup>.

A produção de milho no Brasil tem aumentado a cada safra. Um dos fatores que contribuem para o aumento na produção é o emprego de sementes com elevada qualidade. Essa qualidade pode ser reduzida a partir do ponto de maturidade fisiológica (PMF), principalmente se as sementes permanecerem no campo de produção. Por isso, as sementes de milho são colhidas em espiga próximas ao PMF, o que implica elevada umidade. O alto teor de água no momento da colheita demanda cuidados até a secagem, para que a qualidade não seja prejudicada. Assim, um dos gargalos da produção atualmente é o período entre a colheita e o início do processo de beneficiamento que, conforme é prolongado, ocorre o retardamento da secagem, que pode prejudicar a qualidade das sementes. Objetivou-se avaliar o efeito da constituição genética e disposição dos parentais na tolerância ao retardamento de secagem das espigas, na qualidade fisiológica e na expressão enzimática das sementes. Foram conduzidos dois experimentos. No primeiro experimento foram colhidas espigas próximas ao PMF (cerca de 35% de umidade) de cada genótipo avaliado, identificadas como linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e híbrido recíproco (HR), com a inversão entre os parentais. Após a colheita manual das espigas, elas foram submetidas a seis tempos de espera até serem submetidas à secagem artificial (10, 18, 24, 28, 32 e 40 horas) em duas temperaturas (42 e 48°C). Utilizou-se DIC com arranjo fatorial 4 x 6 x 2. No segundo experimento, com os mesmos genótipos e procedimentos, as espigas foram submetidas ao período de espera entre a colheita e a secagem de 10, 24 e 40 horas sob a temperatura constante de 48°C no ambiente de retardamento, com uso de DIC e fatorial 4 x 3. Após os períodos de retardamento, as sementes foram secadas artificialmente até 13%. Em ambos os experimentos se avaliou a qualidade fisiológica por meio do teste de germinação papel, emergência em canteiro e teste frio. No segundo experimento avaliou-se também a abundância nas sementes de *late embryogenesis abundant proteins* (LEA proteínas) e expressões da enzima  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -AM). Os dados foram submetidos à análise de variância F ( $p < 0,05$ ), teste de Tukey a 5% de probabilidade, e análises de regressões polinomiais. As linhagens foram mais sensíveis às temperaturas elevadas e ao retardamento de secagem em relação aos híbridos, sendo a linhagem L2 mais suscetível. A temperatura de 42°C afetou apenas a qualidade da linhagem L2. Linhagens reduziram a qualidade nas primeiras 10 horas de retardamento de secagem sob temperatura de 48°C. Com 40 horas de retardamento a 42°C, a qualidade das sementes híbridas não foi afetada; contudo, a 48°C, o retardamento foi prejudicial. O posicionamento das linhagens afetou a tolerância ao retardamento de secagem de sementes híbridas; as linhagens suscetíveis não devem ser utilizadas como progenitores femininos por afetarem a tolerância das sementes híbridas. Com o período de retardamento de secagem estendido, houve maior abundância de LEA proteínas, principalmente nas linhagens. As sementes da linhagem mais suscetível (L2) ao retardamento de secagem tiveram menores expressões de alfa amilase.

**Palavras-chave:** Deterioração. Expressão enzimática. Pós-colheita. Qualidade fisiológica. *Zea mays*.

---

<sup>1</sup> Orientador: Everson Reis Carvalho – UFLA.

## ABSTRACT

COSTA, Júlia Camargos da. **Tolerance to drying delay in hybrid corn seeds according to parentals and temperature.** 2020. 65 pages. Thesis (Master's Program in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Uberlandia, Uberlandia, 2020<sup>1</sup>.

Corn production in Brazil has increased at each harvest and one of the reasons is the use of high-quality seeds. Seeds quality can be reduced from the point of physiological maturity, especially if the seeds remain in the production field. For this reason, corn seeds are harvested on the cob close to the point of physiological maturity, which implies high humidity. The high water content at the time of harvest requires attention until drying, so that the quality is not impaired. Thus, one of the bottlenecks in production today is the period between the harvest and the beginning of its processing; as it is prolonged, there is a delay in drying, which can damage the quality of the seeds. The objective of this study was to evaluate the effect of genetic makeup, parental arrangement, tolerance to the drying delay of the ears, the physiological quality and the enzymatic expression of the seeds. Two experiments were conducted. In the first one, ears from each genotype were harvested close to the point of physiological maturity (about 35% humidity), identified as lineage 1 (L1), lineage 2 (L2), hybrid HB (maternal parent L1 and paternal L2) and reciprocal hybrid (RH), with inversion between parents. After manual harvesting of the ears, they were submitted to six waiting times until they were submitted to artificial drying (10, 18, 24, 28, 32 and 40 hours) at two temperatures (42 and 48 °C). Completely randomized design (CRD) with a 4 x 6 x 2 factorial arrangement was used. In the second experiment, with the same genotypes and procedures, the ears were submitted to the waiting period between harvest and drying for 10, 24 and 40 hours under a constant temperature of 48 °C in the delaying environment, using CRD and 4 x 3 factorial. After the delaying period, the seeds were artificially dried to 13%. In both experiments, the physiological quality was evaluated by means of paper germination test, crop emergence, and cold test. In the second experiment, the abundance in the seeds of *late embryogenesis abundant proteins* (LEA proteins) and expressions of the enzyme  $\alpha$ -amylase ( $\alpha$ -AM) were also evaluated. The data were submitted to an analysis of variance F ( $p < 0.05$ ), Tukey's test at 5% probability, and analysis of polynomial regressions. The lineages were more sensitive to high temperatures and drying delay compared to hybrids; L2 was more susceptible. The temperature of 42 °C affected only the quality of the L2. Lineages reduced quality in the first 10 hours of drying delay at 48 °C. The quality of the hybrid seeds was not affected within 40 hours of delay at 42 °C; however, at 48 °C the delay was harmful. The positioning of the lineages affected the tolerance to the drying delay of hybrid seeds. Susceptible lineages should not be used as female parents as they affect the tolerance of hybrid seeds. With extended drying delay period, there was greater abundance of LEA proteins, mainly in the lineages. The seeds of the lineage most susceptible (L2) to drying delay had lower expressions of alpha amylase.

**Keywords:** Deterioration. Enzymatic expression. Post-harvest. Physiological quality. *Zea mays*.

---

<sup>1</sup> Advisor: Everson Reis Carvalho – UFLA.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Capítulo I

- Figura 1 – Porcentagem de germinação de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos a temperatura de 42°C (a) e 48°C (b) durante o período até a secagem. 40
- Figura 2 – Porcentagem de emergência de plântulas provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos a temperatura de 42°C (a) e 48°C (b). 43
- Figura 3 – Porcentagem de plântulas normais após teste frio, provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1(L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos a temperatura de 42°C (a) e 48°C (b). 45

### Capítulo II

- Figura 1 – Padrão eletroforético de proteínas resistentes ao calor (*late embryogenesis abundant proteins* – LEA proteínas) em sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos ao retardamento de secagem por 10, 24 e 40 horas sob 48°C. 59
- Figura 2 – Padrão eletroforético da enzima  $\alpha$ -amilase em sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos ao retardamento de secagem por 10, 24 e 40 horas sob 48°C. 61

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

- Tabela 1 – Porcentagem de germinação de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) em função de temperaturas e períodos até a secagem. 38
- Tabela 2 – Porcentagem de emergência de plântulas provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) em função de temperaturas e períodos até a secagem. 42
- Tabela 3 – Porcentagem de plântulas normais após teste frio, provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) em função de temperaturas e períodos até a secagem. 44

### Capítulo II

- Tabela 1 – Análise de variância dos resultados referentes aos testes de qualidade fisiológica realizados em quatro genótipos de milho-semente submetidos ao retardamento de secagem sob temperatura de 48°C durante diferentes tempos na safra 2018. 57
- Tabela 2 – Porcentagem de germinação, emergência plântulas e emergência de plântulas normais após teste frio provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) sob temperatura de 48°C com retardamentos de secagem em 10, 20 e 40h. 58

### Apêndice A

- Tabela 1 – Análise de variância dos resultados referentes aos testes de qualidade fisiológica realizados em quatro genótipos de milho-semente submetidos ao retardamento de secagem, por diferentes tempos e temperaturas. 67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ADH</b>	Álcool Desidrogenase
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CGC</b>	Capacidade geral de combinação
<b>CEC</b>	Capacidade específica de combinação
<b>CV</b>	Coeficiente de variação
<b>DIC</b>	Delineamento inteiramente casualizado
<b>EST</b>	Esterase
<b>ha</b>	Hectare
<b>HCl</b>	Ácido clorídrico
<b>HD</b>	Híbrido duplo
<b>HS</b>	Híbrido simples
<b>HT</b>	Híbrido triplo
<b>ICL</b>	Isocitrato Liase
<b>IVE</b>	Índice de velocidade de emergência
<b>Kg</b>	Quilogramas
<b>Kg ha<sup>-1</sup></b>	Quilos por hectare
<b>LEA</b>	<i>Late Embriogenesis Abundant</i>
<b>MDH</b>	Malato Desidrogenase
<b>PDC</b>	Piruvato Descarboxilase
<b>PMF</b>	Ponto de maturidade fisiológica
<b>PRX</b>	Peroxidase
<b>PVP</b>	Polivinilpirrolidone
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>SOD</b>	Superóxido Dismutase
<b>UBS</b>	Unidade de beneficiamento de sementes
<b>t</b>	Tonelada

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b><math>\alpha</math>-AM</b>	Alfa-amilase
♀	Feminino
♂	Masculino
<b>2n</b>	Célula diploide
<b>3n</b>	Célula triploide

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Cultura do milho .....	18
2.2 Produção de sementes híbridas de milho .....	19
2.3 Qualidade fisiológica e vigor em sementes de milho.....	20
2.4 Expressões enzimáticas em função da qualidade de sementes.....	22
2.5 Retardamento da secagem .....	24
REFERÊNCIAS .....	27
CAPÍTULO I – Qualidade fisiológica de sementes híbridas de milho sob retardamento de secagem em função dos parentais utilizados.....	32
1 INTRODUÇÃO .....	34
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4 CONCLUSÕES .....	46
REFERÊNCIAS .....	47
CAPÍTULO II – Expressões enzimáticas e a tolerância ao retardamento de secagem em sementes híbridas de milho com diferentes disposições parentais .....	50
1 INTRODUÇÃO .....	52
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4 CONCLUSÕES .....	62
REFERÊNCIAS .....	63
APÊNDICE A – Capítulo I - Resultados da análise de variância .....	67

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays*) é uma das espécies cultivadas que representa grande importância econômica na agricultura mundial, devido ao valor energético de seu grão (FROES et al., 2012). O cultivo desse cereal em território brasileiro é extensivo, sendo o segundo grão mais cultivado, ficando atrás apenas da soja. Estima-se que na safra 2018/2019, a área semeada em todo país tenha sido de 17,49 milhões de hectares (ha) de milho em primeira e segunda safras, um incremento de 5% em relação à safra anterior. A produtividade média passou de 4.857 kg ha<sup>-1</sup> para 5.715 kg ha<sup>-1</sup>, cerca de 15% de incremento. Já a produção total de milho teve um aumento de aproximadamente 24%, cerca de 99,98 mil toneladas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2019).

O aumento da produção desse grão é atribuído a diversas práticas de manejo, como o uso de mão de obra qualificada, maquinário moderno, manejo adequado do solo e uso de sementes de qualidade. Sementes com qualidade são um dos principais veículos de tecnologia no campo, responsável por tornar mais eficiente o sistema de produção (JOSÉ et al., 2004).

O mercado de sementes de milho é expressivo no agronegócio brasileiro. Estima-se que em 2017/2018 tenham sido produzidas 562.955 toneladas de sementes no país. Esse mercado pode movimentar cerca de R\$10 bilhões ao ano no Brasil (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS, 2019).

Atualmente, o mercado de sementes de milho é extremamente competitivo e exigente em relação à qualidade de sementes. Marcos Filho (2015) define que a qualidade de uma semente é um conjunto de características que determinam seu valor para a semeadura, correlacionando a existência do potencial de desempenho das sementes quando presente a interação entre atributos de natureza genética, física, fisiológica e sanitária.

As sementes de milho são em sua maioria híbridas, resultantes de um processo de reprodução sexuada entre duas linhagens distintas, a fim de se obter um maior ganho em heterose, expressando características desejáveis, seja pela resistência a pragas e patógenos ou a condições adversas, ou pela maior capacidade produtiva de grão (GOMES et al., 2000).

Quando se trata da produção de sementes híbridas de milho, recomenda-se que a colheita seja feita em espiga, em momento próximo ao ponto de maturidade fisiológica (PMF), em que há maior acúmulo de matéria seca, coincidindo com elevado potencial fisiológico, além de ficar menos tempo exposta a intempéries, pragas e patógenos no campo (OLIVEIRA; MORAIS, 2017). Nessa fase, as sementes também se encontram com umidade elevada, cerca de 35%, e alguns cuidados são de extrema importância.

Visando manter a qualidade fisiológica das sementes de milho após a colheita, Castro et al. (2015) ressaltam a importância de se iniciar o processo de secagem artificial rapidamente, já que a associação entre a alta umidade das espigas e altas temperaturas na massa de sementes podem dar início ao processo de deterioração e consumo antecipado das reservas, depreciando a qualidade fisiológica das sementes.

No entanto, após a colheita das espigas, nem sempre é possível que a secagem seja imediata, pois o transporte desse material pode levar algum tempo até a chegada nas usinas de beneficiamento de sementes (UBS). Isso proporciona um retardamento da secagem, dando início ao processo de deterioração, decorrente da alta umidade, aumento na atividade respiratória e aumento na temperatura na massa de sementes (CARVALHO et al., 2019).

A preocupação atual em manter a qualidade entre a colheita e a secagem é devido às distâncias entre campos de produção e UBSs e a realidade enfrentada pela logística no setor rodoviário. Carvalho et al. (2019) afirmam que, em algumas situações, o tempo entre a colheita e a secagem de sementes nas usinas pode ultrapassar 50 horas, em função das longas distâncias dos campos de produção de semente, das más condições das rodovias brasileiras, ou da falta de planejamento na unidade de beneficiamento de sementes (UBS). Além disso, sob condições tropicais, a carga transportada pode elevar sua temperatura em função da ausência de oxigênio na massa, da temperatura externa elevada e do tempo de transporte longo.

Em importantes regiões brasileiras produtoras de sementes híbridas, como Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, localizadas no Estado de Minas Gerais, é comum a ocorrência de elevadas temperaturas ambientais durante o transporte, o que propicia a elevação da temperatura da massa de espigas e compromete a qualidade das sementes.

Apesar de toda tecnologia aplicada à produção e beneficiamento de sementes híbridas de milho, ainda ocorrem situações em que não se tem todas as informações necessárias para a obtenção da melhor qualidade das sementes híbridas. A constituição genética da própria semente também pode estar envolvida no processo de redução da qualidade fisiológica sob situações de retardamento na secagem. Dessa forma, o estudo da combinação entre parentais pode auxiliar no esclarecimento de possíveis disposições entre linhagens, a fim de se obter híbridos com tolerância a diferentes condições ambientais, principalmente a altas temperaturas, ou seja, a fim de manter a qualidade fisiológica, mesmo com atraso na secagem e ocorrência de altas temperaturas durante o transporte até a UBS.

Logo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da disposição dos parentais na produção dos híbridos sobre a tolerância ao retardamento de secagem das espigas, a qualidade fisiológica e a expressão enzimática nas sementes, e, assim, obter a melhor combinação dos

parentais visando à qualidade fisiológica de sementes híbridas, mesmo sob retardamento de secagem.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cultura do milho

Relata-se que o milho foi domesticado e introduzido na alimentação humana há aproximadamente 10.000 anos, principalmente pelas antigas civilizações da América Central (MÔRO; FRITSCHÉ-NETO, 2017). Em função da variedade de raças e cultivares, além da sua característica politépica, sua propagação, adaptação e cultivo ao redor do mundo fez dela uma das espécies mais plantadas atualmente (MÔRO, 2018).

O milho é uma planta alógama, monoica e protândrica. Possui um sistema radicular não muito profundo, porém eficiente na absorção de água e nutrientes do solo. Seu caule é do tipo colmo, um órgão conhecido por regular as relações de fonte e dreno dentro da planta, e suas folhas são altamente fotossintéticas (C4). Suas inflorescências são compostas pelo pendão e pelas espigas, partes masculina e feminina, respectivamente (VON PINHO et al., 2017).

A polinização na cultura do milho ocorre pelo contato dos grãos de pólen com o estigma. Após a polinização, a fertilização é imediata e consiste na fecundação do óvulo, por meio da união de um dos gametas masculinos ( $\sigma$ ) ao núcleo da oosfera ( $\varphi$ ), formando o embrião (2n), enquanto o outro núcleo reprodutivo ( $\sigma$ ) se une aos dois núcleos polares ( $\varphi$ ) do saco embrionário (fusão tripla), formando o núcleo do endosperma (3n) (MARCOS FILHO, 2015).

Os grãos resultantes da fecundação são compostos por endosperma, pericarpo e gérmen (parte embrionária da semente). O endosperma é rico em amido, enquanto o pericarpo e o gérmen são ricos em lipídeos e proteínas de boa qualidade nutricional (FROES et al., 2012). Logo, a produção do milho é destinada ao aproveitamento desses componentes, seja na forma de alimentação animal (OLIVEIRA et al., 2011) ou humana (FROES et al., 2012), na indústria alimentícia (SANCHES et al., 2016) e na produção de combustíveis (PAIVA et al., 2010).

O plantio de milho no Brasil tem sido feito em duas safras, devido à continentalidade do país e ao clima favorável a seu desenvolvimento. Segundo dados do décimo segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (2019), a produção do grão na primeira safra foi de 26,2 milhões de toneladas. Já na segunda safra, a produção nacional prevista foi de 73,8 milhões de toneladas.

Técnicas de cultivo empregadas, entre elas o manejo eficiente do solo, mão-de-obra qualificada, maquinário moderno e uso de sementes de elevada qualidade e tecnologia são responsáveis por esse resultado.

O uso de sementes com elevada qualidade é hoje uma realidade a campo, haja vista que as empresas produtoras de sementes participam de um mercado altamente competitivo e, por isso, atendem rigorosos padrões de qualidade, entregando ao produtor alta tecnologia por meio das sementes, capazes de tornar mais eficiente o sistema de produção (JOSÉ et al., 2004). Assim, devido à alta exigência em qualidade pelo mercado, cuidados e ajustes no sistema de produção e controle de qualidade internos são necessários para obtenção de sementes com alto padrão de qualidade.

## 2.2 Produção de sementes híbridas de milho

As sementes de milho são produtos da reprodução sexuada e correspondem à estrutura de propagação mais popular entre as espécies vegetais cultivadas (BINSFELD et al., 2014). Sua formação inicia-se no momento em que a planta mãe entra em processo de florescimento. A partir de então, influenciada por fatores ambientais e fatores intrínsecos da planta, há a formação das flores e suas respectivas estruturas reprodutivas (MARCOS FILHO, 2015).

A reprodução sexuada pode ocorrer em plantas hermafroditas e em plantas monoicas. Plantas hermafroditas são aquelas que têm o androceu e gineceu em uma mesma flor, como é o caso da espécie *Carica papaya* (BORELLA; STEVANATO, 2015). O milho é uma planta monoica, que dispõe do gineceu e o androceu em estruturas diferentes na mesma planta, nos estilo-estigmas (♀) e pendão (♂), respectivamente (MARCOS FILHO, 2015).

No milho, quando os grãos de pólen (♂) polinizam os estilo-estigmas (♀) ocorre a germinação do tubo polínico. O tubo polínico cresce em direção ao ovário e penetra no óvulo pela micrópila. A partir de então, há a ruptura desse tubo polínico e inicia-se a fecundação do óvulo por meio da dupla fertilização. Na dupla fertilização, forma-se o zigoto, célula diploide (2n), através da fusão de um gameta masculino ao núcleo da oosfera (♀) e a formação do núcleo do endosperma (3n), uma célula triploide, resultado da fusão do outro gameta paterno com dois gametas maternos (núcleos polares) (MARCOS FILHO, 2015).

O milho é uma planta com alta taxa de fecundação cruzada, favorecendo a variabilidade genética dentro dessa espécie. Conhecendo essa dinâmica, empresas produtoras de sementes híbridas de milho utilizam-se de linhagens com boa capacidade combinatória para alcançar um efeito heterótico, que pode ser pelo aumento na tolerância da semente sob alguma condição adversa ou aumento do rendimento dos grãos, por exemplo (GOMES et al., 2000).

O ganho na heterose é maior quando os parentais são linhagens, sendo as sementes híbridas provenientes desse cruzamento com controle de polinização entre os parentais, fazendo uso de emasculação no parental feminino. Na planta do parental feminino serão colhidas as sementes híbridas; já o parental masculino é utilizado apenas para fecundação. Os mais conhecidos e utilizados no mercado são os híbridos simples (HS), provenientes do cruzamento de duas linhagens endogâmicas. Contudo, são produtos mais caros e, por isso, algumas empresas produtoras de sementes trabalham com híbridos triplos (HT), provenientes do cruzamento entre um híbrido simples e uma linhagem, e híbridos duplos (HD), cruzamentos entre dois híbridos simples, os quais possuem um ganho heterótico menor (COSTA et al., 2010).

A transferência de características desejadas é objeto de estudo desde a época em que ainda se trabalhava apenas com o melhoramento convencional. Atualmente, o emprego da biotecnologia e do sequenciamento genético permitiu que a obtenção e transferência de apenas determinadas características sejam feitas de forma mais rápida e eficaz (TEIXEIRA, 2009).

Dessa forma, os programas de melhoramento de empresas sementeiras têm trabalhado no desenvolvimento de linhagens de sementes de milho, definindo quais serão os melhores genitores “femininos” e “masculinos”, a fim de estabelecer cruzamentos que resultem em sementes híbridas com maior efeito heterótico, adaptáveis às mais diversas condições, tais como plantio, produção, colheita e beneficiamento (GOMES et al., 2000).

Além da escolha dos parentais, a disposição deles em parental feminino e masculino é relevante, pois podem afetar nas características das sementes produzidas (JOSÉ et al., 2006; PRAZERES; COELHO, 2016). Trabalhando com a obtenção de híbridos tolerantes ao estresse hídrico, Abreu et al. (2019) relatam efeitos recíprocos significativos, destacando a importância da escolha correta do genitor feminino visando essa característica.

Nesse sentido, existe a demanda atual por informações quanto à disposição dos genitores, como femininos ou masculinos, para uma situação que tem sido corriqueira na produção de sementes híbridas, o retardamento de secagem (CASTRO et al., 2015; CARVALHO et al., 2019), que conseqüentemente afeta a qualidade fisiológica das sementes produzidas.

### **2.3 Qualidade fisiológica e vigor em sementes de milho**

Cultivos com altos níveis tecnológicos como o da cultura do milho exigem o uso de sementes com elevada qualidade. Essa qualidade pode ser classificada em função dos atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos (MARCOS FILHO, 2015).

O atributo genético refere-se à ausência da contaminação, seja no campo ou na UBS, por outros indivíduos da mesma espécie (RAMOS et al., 2006), ou por pólen indesejado, devido a falhas no controle da polinização. A qualidade física está relacionada com a ausência de materiais inertes e sementes de outras culturas no lote. Já a qualidade sanitária refere-se à ausência de microrganismos patogênicos nas sementes (CATÃO et al., 2010). E, por fim, a qualidade fisiológica está relacionada ao vigor e à boa capacidade de desenvolvimento da semente ao germinar e ao rápido estabelecimento da cultura no campo (ZUFFO et al., 2017).

O vigor de uma semente é caracterizado pelo maior potencial de desenvolvimento em campo que ela possui diante de fatores adversos presentes nesse meio, como, por exemplo, a elevada ou baixa temperatura, disponibilidade hídrica, sanidade, além de outras características próprias do ambiente (SILVA et al., 2016). Ele pode ser mensurado por meio de testes realizados em laboratórios de análises de sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Entre os testes mais comuns realizados nos laboratórios de análises de sementes credenciados pelo MAPA estão os testes de germinação, testes de viabilidade, como o teste de emergência em canteiro, e testes de vigor, como o teste frio.

O teste de germinação de sementes não é classificado como teste de vigor ou teste de viabilidade, contudo têm por objetivo obter informações referentes à capacidade germinativa de determinado lote de sementes e comparação de diferentes lotes. Pelo teste de germinação, ainda é determinado se as plântulas são normais; quando desenvolvem todas as estruturas de plântula satisfatoriamente ou anormais; quando as plântulas são deterioradas, deformadas e danificadas; as sementes dormentes, duras e mortas. Esse teste permite determinar a porcentagem de germinação de sementes de um lote (MARCOS FILHO, 2015).

Há também testes baseados no desempenho ou características de plântulas, como o teste de emergência em canteiro. Por meio desse teste é relatada a uniformidade e rapidez de emergência de plântulas. Essas características são componentes importantes para verificar o desempenho das sementes, que poderá influenciar no estabelecimento do estande de plantas a campo. Sementes mais vigorosas originam plântulas mais desenvolvidas em menor tempo, fator que pode ser mensurado pelo índice de velocidade de emergência (IVE), que também pode ser realizado durante a condução do teste de emergência em canteiro (MARCOS FILHO, 2015).

Em sementes de milho, o teste frio tem sido muito utilizado para avaliar o vigor das sementes. O teste fornece um ambiente de estresse para a semente, devido à presença de baixa temperatura, alto teor de água do substrato e agentes patogênicos, quando presentes. Dessa forma, quando as sementes são submetidas a condições subótimas, os solutos celulares tendem a se perder, liberando exsudados, como os açúcares, por exemplo (MARCOS FILHO, 2015).

O vigor então é estimado em função do desenvolvimento satisfatório ou não das plântulas, sendo consideradas plântulas vigorosas aquelas que desenvolvem suas estruturas normalmente, mesmo em ambiente com condições de estresse às sementes.

Trabalhando com sementes de milho com diferentes níveis de vigor em diferentes temperaturas, Sbrussi e Zucareli (2014) concluíram que temperaturas baixas retardam a germinação de sementes, principalmente aquelas que tiveram vigor reduzido. Eles também puderam concluir que sementes provenientes de lotes mais vigorosos tiveram maior desempenho germinativo em todas as temperaturas trabalhadas.

Portanto, o uso de testes para avaliar a qualidade é fundamental no escopo sementeiro, já que alguns genótipos podem reduzir sua qualidade fisiológica no momento da colheita, ou até mesmo nas etapas de beneficiamento e armazenamento, permitindo, assim, que haja um monitoramento da qualidade por meio desses testes (FERREIRA; SÁ, 2010).

#### **2.4 Expressões enzimáticas em função da qualidade de sementes**

O processo de deterioração em sementes causado pelo retardamento na secagem pode ser manifestado de diferentes formas, podendo ser por meio de alterações de ordem fisiológica, metabólica ou bioquímica (ARAGÃO et al., 2003).

Portanto, assim como os demais organismos vivos, essas sementes possuem mecanismos de defesa contra situações de estresse, que se manifestam sob a forma de reações envolvendo enzimas, as quais atuam na redução ou no aumento de reações em sua atividade respiratória e metabolismo (CARNEIRO et al., 2011).

Foram propostas técnicas de avaliação envolvendo proteínas e isoenzimas capazes de averiguar as alterações bioquímicas nas sementes. Logo, a avaliação da qualidade fisiológica de sementes pode ser melhor elucidada quando feita a correlação entre testes realizados em laboratórios de análise de sementes junto às expressões enzimáticas (CARVALHO et al., 2014; GOMES et al., 2000; SANTOS et al., 2016).

Timóteo e Marcos Filho (2013) avaliaram a expressão de enzimas em sementes de milho, como a Catalase (CAT), Álcool Desidrogenase (ADH) e  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -AM) e observaram que há a variação no vigor e na atividade das enzimas em função do genótipo. Já Carvalho et al. (2014) avaliaram a atividade de enzimas como a Esterase (EST), Malato Desidrogenase (MDH), Superóxido Dismutase (SOD), Peroxidase (PRX), Isocitrato Liase (ICL) e ADH em sementes de soja, constatando que a expressão dessas enzimas varia conforme a qualidade fisiológica dos cultivares de soja. Santos et al. (2016) também observaram relação

entre a qualidade fisiológica e expressão enzimática em sementes de milho quando avaliadas as enzimas Piruvato Descarboxilase (PDC), ADH, MDH e  $\alpha$ -AM.

Frente à escassez de informações em relação à tolerância ao atraso de secagem, por inferência indireta, estudos quanto à tolerância à alta temperatura durante o processo de secagem artificial podem ser úteis. Para José et al. (2006), os híbridos e seus recíprocos tinham distintas tolerâncias à alta temperatura de secagem e conteúdo de açúcares solúveis. A maioria dos híbridos tolerantes à alta temperatura de secagem teve menor conteúdo dos monossacarídeos e frutose e maior abundância de sacarose. Vários mecanismos como a presença de açúcares solúveis, de enzimas antioxidantes e de proteínas específicas (*Late embryogenesis abundant proteins* – LEA proteínas) têm sido envolvidos na aquisição e manutenção da tolerância à dessecação, e, assim, também podem estar ligados à tolerância ao retardamento de secagem.

Entre as enzimas relevantes para as sementes de milho, está a  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -AM), pois está relacionada com o principal processo de degradação de amido. Com a produção e transporte do ácido giberélico até a camada de aleurona, estimula-se a síntese de hidrólises que vão para o endosperma, degradando, junto de outras enzimas, o amido (SILVA et al., 2008).

Logo, é uma enzima importante na hidrólise do amido e, portanto, genótipos que tenham maior expressão dessas enzimas tendem a disponibilizar carboidratos ao embrião com mais facilidade, resultando em maior velocidade de germinação e maior vigor (DINIZ et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2013).

Além disso, Rosa et al. (2005), quando submeteram sementes de milho a elevadas temperaturas de secagem, constataram que sementes em estádios tolerantes a elevadas temperaturas produzem maior quantidade de  $\alpha$ -AM, enquanto sementes em estádios de menor tolerância a altas temperaturas de secagem sintetizam menos  $\alpha$ -AM.

Ao serem colhidas, as sementes ficam temporariamente armazenadas nos meios de transportes. Esse armazenamento pode ser prejudicial. Isso foi verificado por Heberle et al. (2019), quando observaram que, sob temperaturas elevadas durante o armazenamento de sementes, houve uma redução acentuada e progressiva da atividade da enzima  $\alpha$ -AM. Essa redução da atividade enzimática está relacionada com o decréscimo do potencial germinativo.

Outra forma de avaliação bioquímica que pode contribuir no estudo da tolerância ao retardamento de secagem é a análise da síntese de proteínas resistentes ao calor, também conhecidas como LEA proteínas (*Late Embryogenesis Abundant*), as quais são mais acumuladas ao final do desenvolvimento das sementes, já no período de maturação. Elas podem estar relacionadas à tolerância a altas temperaturas e dessecação (FARIA et al., 2004).

Rosa et al. (2005) concluíram que sementes de milho tolerantes à alta temperatura de secagem têm maior quantidade de proteínas LEA. Dutra et al. (2015) observaram em linhagem não tolerante à temperatura de 40°C na germinação, uma baixa expressão de LEA proteínas. Andrade et al. (2013) verificaram que a maior expressão de LEA proteínas está relacionada com maior germinação e vigor em sementes.

Contudo, o aumento da expressão gênica de várias proteínas LEA também pode ser resultado de condições de estresse hídrico ou de situações de deterioração controlada a que as sementes são submetidas. Além disso, é importante ressaltar que o genótipo influencia a expressão gênica das LEA proteínas (ABREU et al., 2016; DUTRA et al., 2015).

Andrade et al. (2013) verificaram que os genes codificadores das LEA proteínas expressam-se diferentemente em função do genótipo e dos estádios de desenvolvimento das sementes, podendo ser expressos tanto em estádios iniciais quanto em estádios finais do desenvolvimento das sementes.

Dessa forma, a análise de expressão de enzimas e abundância de determinadas proteínas tem potencial de auxiliar na seleção de genótipos e na escolha da disposição de parentais visando à tolerância ao retardamento de secagem e, conseqüentemente, maior qualidade das sementes produzidas.

## **2.5 Retardamento da secagem**

As sementes de milho geralmente são colhidas próximo de seu ponto de maturidade fisiológica (PMF), período em que há maior acúmulo de matéria seca e elevado vigor da semente (VERGARA et al., 2018). Nesse momento, a semente também tem elevado teor de água, cerca de 35 a 40%; assim, para reduzir o efeito deletério do armazenamento em campo, é realizada a colheita em espigas, que devem ser submetidas à prática de secagem artificial o mais breve possível, evitando, assim, o início do processo de deterioração da semente, causado pelo aumento da atividade respiratória e conseqüente consumo de reservas (CARVALHO et al., 2019).

Uma vez colhidas, as sementes devem ser encaminhadas às UBSs para que o início da secagem ocorra e sua qualidade não seja tão afetada (LORENZETTI, 2017). No entanto, nem sempre isso é um processo rápido, devido à logística de produção. Em alguns casos, os períodos de permanência das espigas nos caminhões podem ultrapassar 50 horas entre a colheita até seu descarregamento nas usinas, em função das longas distâncias dos campos de produção de

semente ou até mesmo pelas más condições das rodovias, ou falta de planejamento nas UBS (CARVALHO et al., 2019).

Com o aumento na produção a cada ano, muitas das vezes a capacidade das UBSs são subestimadas, extrapolando a capacidade de recebimento e beneficiamento em determinadas épocas em que vários campos são colhidos ao mesmo tempo. Dessa forma, ao chegar nas UBSs, os caminhões carregados com as espigas híbridas são obrigados a esperar nos pátios, atrasando o descarregamento e conseqüentemente a secagem, ficando expostos à radiação solar, gerando calor na massa de sementes (CARVALHO et al., 2019), o que pode desencadear o processo de deterioração nas sementes.

Na deterioração acontece a perda de matéria seca do produto e os atributos físicos, fisiológicos, sanitários e genéticos do lote são afetados (MARCOS FILHO, 2013). Logo, o valor do produto é reduzido, assim como o aceite do mesmo perante o produtor.

A velocidade de deterioração de sementes de milho pode ser influenciada por diversos fatores, destacando-se a umidade, a temperatura do meio, a condição fisiológica inicial da semente e as características genéticas (FERREIRA et al., 2013). Dessa forma, o processo de deterioração é acentuado à medida que um ou mais fatores encontram-se em desequilíbrio, fora dos padrões preconizados pelas empresas produtoras de sementes.

Os danos resultantes do processo de retardamento na secagem podem variar de região para região, em função das condições climáticas, umidade do ar, temperatura e insolação (CONCEIÇÃO, 2011). Regiões com tendência de clima mais quente e alta incidência solar podem ter esse processo de deterioração acentuado durante o retardamento de secagem, como o caso do Brasil Central, um dos grandes produtores de sementes. Além disso, Dutra et al. (2015) ressaltam que, em climas tropicais, as elevadas temperaturas e excesso de radiação solar são, geralmente, os fatores mais limitantes na produção de sementes, sendo que a temperatura elevada pode ainda causar danos consideráveis na pré e pós-colheita.

Portanto, o resultado dessa deterioração pode ser identificado por meio da redução da porcentagem de germinação em laboratório, redução da velocidade de emergência e crescimento, baixa resistência a condições adversas do ambiente durante a germinação e, no início do desenvolvimento das plântulas, redução da emergência de plântulas, aumento da taxa de anormalidade de plântulas e perda do poder germinativo (CONCEIÇÃO, 2011).

Castro et al. (2015) observaram mudanças no vigor das sementes de milho após o atraso de secagem mesmo, em temperaturas mais amenas (20 e 40°C), principalmente quando as sementes são colhidas com umidades acima de 34%. Com a ocorrência de elevadas

temperaturas, 60°C, a deterioração foi intensa tanto para viabilidade quanto para vigor logo no início do retardamento.

Carvalho et al. (2019) relataram que a ocorrência de temperaturas de até 40°C no retardamento de secagem de espigas de milho colhidas com 31% de umidade não afetou a germinação ou vigor, com períodos de até 36 horas de espera. Já sob temperatura de 50°C, a germinação foi afetada com 36 horas de espera até a secagem e o vigor foi prejudicado com atraso de 24 horas, sendo acentuado ao longo dos períodos de retardamento. Na temperatura de 60°C, a redução de vigor e germinação ocorreram nas primeiras horas de atraso na secagem.

Por isso, o monitoramento e entendimento dos fatores que podem afetar a qualidade fisiológica das sementes de milho colhidas com altas umidades são relevantes, entre eles, genótipos, temperatura e tempo entre a colheita e a secagem.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário 2018**. [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: [http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Arte\\_Anuario2018\\_COMPLETO\\_WEB.pdf](http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Arte_Anuario2018_COMPLETO_WEB.pdf). Acesso em: 22 nov. 2019.

ABREU, V. M.; COSTA NETA, I. S.; VON PINHO, E. V. R.; NAVES, G. M. F.; GUIMARÃES, R. M.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, R. G. Heat-resistant protein expression during germination of maize seeds under water stress. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 3, p. 1-8, 2016.  
<https://doi.org/10.4238/gmr.15038535>

ABREU, V. M.; VON PINHO, E. V. R.; MENDES-RESENDE, M. P.; BALESTRE, M.; LIMA, A. C.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, R. G. Combining Ability and Heterosis of Maize Genotypes under Water Stress during Seed Germination and Seedling Emergence. **Crop Science**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 33-43, 2019.  
<https://doi.org/10.2135/cropsci2018.03.0161>

ANDRADE, T.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; OLIVEIRA, G. E.; ANDRADE, V.; FERNANDES, J. S. Physiological quality and gene expression related to heat-resistant proteins at different stages of development of maize seeds. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, p. 3630-3642, 2013.  
<https://doi.org/10.4238/2013.September.13.7>

ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F.; ALVES, E.; CATANEO, A. C.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 43-48, 2003.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222003000100008>

BINSFELD, J. A.; BARBIERI, A. P. P.; HUTH, C.; CABRERA, I. C.; HENNING, L. M. M. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 88-94, 2014.  
<https://doi.org/10.1590/S1983-40632014000100010>

BORELLA, J. C.; STEVANATO, M. C. B. Análise sazonal da produção e da atividade enzimática de látex fresco coletado de frutos de plantas femininas e hermafroditas de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 17, n. 4, p. 1112-7, 2015.  
[https://doi.org/10.1590/1983-084x/15\\_002](https://doi.org/10.1590/1983-084x/15_002)

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A. MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p.0-0, 2011.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000400017>

CARVALHO, E. R.; OLIVEIRA, J. A.; VON PINHO, E. V. R.; COSTA NETO, J. Enzyme activity in soybean seeds produced under foliar application of manganese. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 4, p. 317-327, 2014.

<https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000400001>

CARVALHO, E. R.; FRANCISCHINI, V. M.; AVELAR, S. A. G.; COSTA, J. C. Temperatures and periods of drying delay and quality of corn seeds harvested on the ears. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 3, p. 336-343, 2019.

<https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3218758>

CASTRO, M. B.; GUIMARÃES, R. M.; PEREIRA, D. S.; REIS, R. G. E. Physiological Quality of Maize Seeds Harvested with Different Moisture Contents and Submitted to Drying Delay. **Journal of Agriculture Food and Development**, Wuhan, v.1, p.19-26. 2015.

<https://doi.org/10.30635/2415-0142.2015.01.5>

CATÃO, H. C. R. M.; COSTA, F. M.; VALADARES, S. V.; DOURADO, E. R.; BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; SALES, N. L. P. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho crioulo produzidas no norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2060-2066, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782010001000002>

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**, v. 6 - Safra 2018/2019, n. 12 - Décimo segundo levantamento. Brasília, DF, 2019.

CONCEIÇÃO, P. M. **Sistema radical de plântulas como indicativo de vigor e feito de bioestimulante em sementes de feijão e milho**. 2011. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

COSTA, E. F. N.; SOUZA, J. C.; LIMA, J. L.; CARDOSO, G. A. Interação entre genótipos e ambientes em diferentes tipos de híbridos de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 12, p. 1433-1440, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010001200014>

DINIZ, R. P.; VON PINHO, I. V.; PANIAGO, B. C.; VON PINHO, E. V. R.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, R. G.; CALDEIRA, C. M. Qualidade fisiológica e expressão de alfa-amilase em sementes de milho produzidas em condições de estresse salino e hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 17, n. 1, p. 37-48, 2018.

<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v17n1p37-48>

DUTRA, S. M. F.; VON PINHO, E. V. R.; SANTOS, H. O.; LIMA, A. C.; VON PINHO, R. G.; CARVALHO, M. L. M. Genes related to high temperature tolerance during maize seed germination. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, p. 18047-18058, 2015.

<https://doi.org/10.4238/2015.December.22.31>

FARIA, M. A. V. R.; VON PINHO, R. G.; VON PINHO, E. V. R.; GUIMARÃES, R. M.; FREITAS, F. E. O. Germinabilidade e tolerância à dessecação em sementes de milho colhidas em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 276-289, 2004.

<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v3n2p276-289>

FERREIRA, R. L.; SÁ, M. E. Contribuição de etapas do beneficiamento na qualidade fisiológica de sementes de dois híbridos de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 99-110, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000400011>

FERREIRA, V. F.; OLIVEIRA, J. A.; FERREIRA, T. F.; REIS, L. V.; ANDRADE, V.; COSTA NETO, J. Quality of maize seeds harvested and husked at high moisture levels. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 276-283, 2013.

<https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000300001>

FROES, L. O.; FALQUETO, M. A. O.; CASTRO, M. V. L.; NAVES, M. M. V. Gérmen com pericarpo de milho desengordurado na formulação de biscoitos tipo *cookie*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 744-750, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000400028>

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

<https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v22n1p7-17>

HEBERLE, E. ARAÚJO, E. F. FILHO, A. F. de L.; CECON, P. R.; ARAÚJO, R. F.; AMARO, H. T. R. Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de milho durante o armazenamento. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 42, n. 3, p. 657-665, 2019.

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA FILHO, J. L. Controle genético da tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 3, p. 414-428, 2004.

<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v3n3p414-428>

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; DIAS, M. A. G. S. Açúcares e tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 60-68, 2006.

<https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000200008>

LORENZETTI, E. Comportamento de sementes de milho submetidas a diferentes condições e período de armazenamento. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 6, n. 1, p. 19-29, 2017.

MARCOS FILHO, J. **Importância do potencial fisiológico da semente de soja**. ABRATES, v. 23, n. 1, p. 21-24, 2013.

MARCOS FILHO, J. Formação da semente. *In*: MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. p. 49-113.

MÔRO, G.; FRITSCHÉ-NETO, R. Importância e usos do milho no Brasil. *In*: GALVÃO, J. C. C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M. A. (ed.). **Milho: do plantio à colheita**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2017. p. 9-24.

MÔRO, G. V. Histórico do Melhoramento Genético do Milho. *In*: LIMA, R.; BORÉM, A. (ed.). **Melhoramento de Milho**. Viçosa: Ed. UFV, 2018. p. 9-19.

OLIVEIRA, F. C. L.; JOBIM, C. C.; SILVA, M. S.; CALIXTO JUNIOR, M.; BUMBIERIS JUNIOR, V. H.; ROMAN, J. Produtividade e valor nutricional da silagem de híbridos de milho em diferentes alturas de colheita. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 4, p. 720-727, 2011.  
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000400004>

OLIVEIRA, G. E.; VON PINHO, R. G.; ANDRADE, T.; VON PINHO, E. V. R.; SANTOS, C. D.; VEIGA, A. D. Physiological quality and amylase enzyme expression in maize seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 1, p. 40-48, 2013.  
<https://doi.org/10.1590/S1413-70542013000100005>

OLIVEIRA, G. P.; MORAIS, O. M. Testes de vigor para determinação da maturidade fisiológica de sementes de feijão-caupi. **Cultura Agronômica: Revista de Ciências Agronômicas**, Ilha Solteira, v. 26, n. 2, p. 103-114, 2017.  
<https://doi.org/10.32929/2446-8355.2017v26n2p103-114>

PAIVA, D. A. S. F.; FURLANETO, B.; CABELLO, C.; KANTHACK, R. A. D. Estudo energético da produção de biocombustível a partir do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 9, 2010.  
<https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000142>

RAMOS, N. P.; BRUNELLI, K. R.; CAMARGOS, L. E. A.; MARCOS FILHO, J. Sensibilidade dos microssatélites para determinar a pureza varietal em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 99-105, 2006.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000100014>

ROSA, S. D. V. F.; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, E. S. N.; VEIGA, R. D.; VEIGA, A. D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas LEA associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222005000200014>

SANCHES, A. G.; COSTA, J. M.; SILVA, M. B.; MOREIRA, E. G. S. Utilização de radiação gama e amido de milho no armazenamento pós-colheita das folhas de couve manteiga. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 3, n. 4, p. 24-31, 2016.  
<https://doi.org/10.32404/rean.v3i4.1186>

SANTOS, H. O.; VON PINHO, I. V.; VON PINHO, E. V. R.; PIRES, R. M. O.; SILVA, V. F.; CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, R. M. E. Physiological quality of hybrid maize seeds through respiratory and enzymatic activities. **African Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 11, n. 20, p. 1879-1886, 2016.  
<https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10457>

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

<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p215>

SILVA, R. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PANOBIANCO, M. Vigor de sementes de milho: influência no desenvolvimento de plântulas em condições de estresse salino. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 47, n. 3, p. 491-499, 2016.

SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V. R.; CARDOSO, D. L.; FERREIRA, C. A.; ALVIM, P. O.; COSTA, A. F. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 840-846, 2008.  
<https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000300021>

TEIXEIRA, R. A. Melhoramento genético vegetal no Brasil: formação de recursos humanos, evolução da base técnico-científica e cenários futuros. **Parcerias Estratégicas**, Brasília, v. 14, n. 28, p. 153-193, 2009.

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS FILHO, J. Desempenho de sementes de diferentes genótipos de milho durante o armazenamento. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p.207-215. 2013.

VERGARA, R. O.; CAPILHEIRA, A. F.; GADOTTI, G. I.; VILLELA, F. A. Intermittence periods in corn seed drying process. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 193-198, 2018.  
<https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n2187373>

VON PINHO, R. G.; SANTO, A. O.; VON PINHO, I. V. Botânica. *In*: GALVÃO, J. C. C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M. A. (ed.). **Milho: do plantio à colheita**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2017. p. 25-48.

ZUFFO, A. M.; ZUFFO JÚNIOR, J. M.; CARVALHO, E. R.; STEINER, F.; ZAMBIAZZI, E. V. Physiological and enzymatic changes in soybean seeds submitted to harvest delay. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 47, n. 4, p. 488-496, 2017.  
<https://doi.org/10.1590/1983-40632017v4749811>

## **CAPÍTULO I – Qualidade fisiológica de sementes híbridas de milho sob retardamento de secagem em função dos parentais utilizados**

### **RESUMO**

O bom desenvolvimento das culturas está diretamente relacionado com o uso sementes de elevada qualidade. Dessa forma, práticas de manejo como as práticas de pós-colheita podem afetar a qualidade das sementes. Objetivou-se avaliar o efeito do retardamento de secagem associado às altas temperaturas sobre a qualidade fisiológica de sementes de milho, oriundas de diferentes combinações dos parentais. Espigas foram colhidas próximo ao PMF, 35% de umidade, dos genótipos identificados como linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (mãe L1 X pai L2) e híbrido recíproco HR (mãe L2 X pai L1). As espigas foram submetidas a seis tempos de espera pela secagem artificial: 10, 18, 24, 28, 32 e 40h sob temperaturas constantes de 42 e 48°C. Utilizou-se DIC em fatorial 4 x 6 x 2. Foram conduzidos testes de germinação e de emergência em canteiro bem como teste frio. As linhagens são mais sensíveis ao retardamento de secagem, sobretudo L2. Sob temperatura de 42°C, apenas a L2 teve a qualidade fisiológica afetada. Sob 48°C, linhagens reduzem a qualidade nas primeiras 10 horas e os híbridos com os períodos avançados de espera. A combinação dos parentais afeta a tolerância ao retardamento à secagem de sementes híbridas, a linhagem utilizada como progenitor feminino deve ser a mais tolerante.

**Palavras-chave:** Atraso de secagem. Colheita em espiga. Deterioração. Vigor. *Zea mays*.

## **CHAPTER I – Physiological quality of hybrid corn seeds under drying delay based on lineages used**

### **ABSTRACT**

The good development of crops is directly related to the use of high-quality seeds. This way, management practices, such as post-harvest practices, may affect their quality. The objective of this study was to evaluate the effect of drying delay associated with high temperatures on the physiological quality of corn seeds from different combinations of parents. Ears were harvested close to physiological maturity point, 35% humidity, from genotypes identified as lineage 1 (L1), lineage 2 (L2), hybrid HB (mother L1 X father L2) and reciprocal hybrid RH (mother L2 X father L1). The ears were submitted to six waiting times for artificial drying: 10, 18, 24, 28, 32 and 40 hours under constant temperatures of 42 and 48 °C. Completely randomized design (CRD) in a 4 x 6 x 2 factorial was used. Germination tests, crop emergence and cold test were conducted. Lineages are more sensitive to drying delay, especially L2. Under the temperature of 42 °C, only L2 had its physiological quality affected. Under 48 °C, lineages reduce their quality in the first 10 hours and hybrids with advanced waiting periods. The combination of parents affects the tolerance to delayed drying of hybrid seeds. Lineage used as maternal parent should be the most tolerant.

**Key-words:** Deterioration. Drying delay. Ears of corn harvest. Germination. Vigor. *Zea mays*.

## 1 INTRODUÇÃO

Entre as culturas agrícolas cultivadas, o milho é destaque na produção de grãos, em função do elevado valor energético (FROES et al., 2012). Na safra 2018/19, a produção do grão foi de aproximadamente 100 mil toneladas, com incremento de 24% em relação à safra anterior (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2019). O aumento da produção é resultado do conjunto de práticas de manejo e tecnologias desenvolvidas, lançadas e utilizadas, entre elas o uso de sementes híbridas de elevada qualidade.

Sementes híbridas de milho são resultado da reprodução sexuada entre duas linhagens distintas, visando à produção de sementes híbridas com maior ganho em heterose, seja pela resistência à determinadas condições adversas ao desenvolvimento da espécie, aumento na produtividade, ou até mesmo no aumento de qualidade (GOMES et al., 2000).

A qualidade de uma semente é trabalhada em todo o processo de produção, exigindo cuidados tanto da parte de produção no campo quanto cuidados referentes à colheita, transporte, beneficiamento, armazenagem e comercialização, garantindo um produto com alta qualidade genética, física, sanitária e fisiológica (FERREIRA; SÁ, 2010; MARCOS FILHO, 2015).

A qualidade da semente é importante, uma vez que está relacionada com o tempo de estabelecimento da cultura, desenvolvimento de plântulas e competição intraespecífica, refletindo, assim, na produtividade final da cultura (MONDO et al., 2012; SILVA et al., 2016).

Visando à manutenção da qualidade de semente de milho, recomenda-se que as sementes sejam colhidas em espiga, próximo ao ponto de maturidade fisiológica (PMF), com umidade em torno de 35%, tendência de máximo vigor. Após a colheita, recomenda-se ainda que o transporte seja imediato, uma vez que se inicia o processo de deterioração de sementes, em função da elevada umidade, temperatura de sua massa e ausência de oxigênio, levando à perda da qualidade (CARVALHO et al., 2019; CASTRO et al., 2015). Esse atraso na secagem pode ser responsável, ainda, pela intensificação do processo de deterioração das sementes, resultando na depreciação da qualidade final do produto (CASTRO et al., 2015).

Em algumas situações e genótipos específicos, a colheita em espiga pode ser realizada com sementes a 40% de umidade (FERREIRA et al., 2013), desde que sua secagem seja imediata. Contudo, segundo Carvalho et al. (2019), isso nem sempre é possível, pois seu transporte pode levar algum tempo, seja por fatores logísticos ou de planejamento, retardando a secagem dessas sementes nas Unidades de Beneficiamento de Sementes (UBSs).

Elevadas temperaturas e ambiente não controlado no armazenamento proporcionam uma redução da viabilidade das sementes de milho (LORENZETTI, 2017). A temperatura,

umidade e oxigenação da massa de sementes são os principais fatores que interferem em seu armazenamento, podendo retardar ou intensificar seu processo de deterioração (TIMÓTEO; MARCOS FILHO, 2013). Assim, durante o intervalo entre a colheita das espigas até a secagem, as sementes estão “armazenadas” temporariamente nos veículos de transporte, os quais fornecem condições impróprias de armazenamento.

Castro et al. (2015) concluíram que a 20 e 40°C, sementes colhidas com umidade abaixo de 40% não tem sua viabilidade afetada até 48 horas. Acima de 40°C, durante a espera de secagem, danos foram verificados. Já Carvalho et al. (2019) concluíram que até 40°C, sementes colhidas com 31% de umidade não têm a germinação e o vigor afetados até as 36 horas de retardo. Sob 50°C, a germinação é afetada a 36 horas e o vigor a 24 horas. Com a ocorrência de 60°C, os danos ocorrem nas primeiras horas.

Outro fator relevante, em que o número de estudos é muito escasso, é a constituição genética da semente e a tolerância ao retardamento de secagem e conseqüente manutenção da qualidade fisiológica. Frente a essa escassez de informações em relação à tolerância ao atraso de secagem, por inferência indireta, estudos quanto à tolerância a alta temperatura durante o processo de secagem podem ser úteis. Para José et al. (2006), os híbridos e seus recíprocos têm distintas tolerâncias à alta temperatura de secagem. Por isso, a escolha da disposição dos progenitores como feminino e masculino é de extrema importância, pois muitas vezes são relatados efeitos recíprocos para algumas tolerâncias (ABREU et al., 2019).

Apesar de toda tecnologia aplicada à produção e beneficiamento de sementes híbridas de milho, atualmente ainda ocorrem situações em que não se têm todas as informações necessárias para obtenção da melhor qualidade das sementes híbridas. Uma dessas é a relação sobre características genéticas, como disposição dos parentais na construção dos híbridos, e a tolerância ao retardamento de secagem, ou seja, a capacidade de manter a qualidade fisiológica mesmo com atraso na secagem e ocorrência de elevadas temperaturas durante o transporte até a UBS.

Em vista disso, objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho oriundas de diferentes combinações dos parentais, sob diferentes temperaturas e diferentes períodos de retardamento até a secagem.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os campos de produção das sementes situavam-se no município de Paracatu (MG), 17°13'21" Sul e 46°52'31" Oeste, altitude média de 688 metros, precipitação média anual de 1.418,8 mm, temperatura média anual entre 8,2°C mín. e 31,2°C máx. (CARDOZO et al., 2018). O clima da região, de acordo com Köppen, é classificado como Aw, clima tropical com chuvas de verão (ALVARES et al., 2013).

Os experimentos e avaliações foram conduzidos em parceria entre a Universidade Federal de Uberlândia, Universidade Federal de Lavras e a empresa Hélix Sementes, Patos de Minas – MG. Os ensaios foram semeados e avaliados em duas safras agrícolas, compreendendo os cultivos 2018/2018 e 2018/2019, com semeaduras em março e setembro de 2018, respectivamente. Os genótipos semeados pertencem ao programa de melhoramento da empresa Hélix Sementes.

Semeou-se a linhagem 1 (L1) e por autofecundação foram produzidas as sementes da linhagem para análise; o mesmo procedimento foi realizado para a linhagem 2 (L2). Para obtenção das sementes híbridas, por meio de polinização controlada, *a priori* foi estabelecido que, para o primeiro híbrido, a linhagem 1 (L1) seria usada como progenitor materno e linhagem 2 (L2) como progenitor paterno, obtendo, assim, as sementes híbridas (HB). E para o segundo híbrido, o híbrido recíproco (HR), inverteu-se os progenitores masculinos e femininos, sendo L2 utilizada como feminino e L1 como masculino.

Todos os cuidados para isolamento, controle, eficiência de polinização e garantia da pureza genética foram tomados. As emascações e polinizações direcionadas foram realizadas mecanicamente e repassadas manualmente.

As espigas foram colhidas manualmente no momento em que as sementes estavam próximas à maturidade fisiológica, entre 35 e 40% de teor de água. Foram colhidas manualmente 120 espigas por material genético, com posterior separação aleatória de 10 espigas para cada tempo e temperatura de retardamento de secagem. Todas as espigas foram colhidas no início da manhã.

As espigas, ainda empalhadas, foram acondicionadas em sacos plásticos trançados em polietileno de alta densidade, tipo Raschel (possibilita equilíbrio de umidade e temperatura com ambiente), e em seguida encaminhadas às câmaras tipo BOD (*Biochemical Demand Oxygen*), sem luz e sem ventilação, com simulação de duas temperaturas no interior de cada câmara, sendo elas: 42°C e 48°C. As espigas permaneceram à espera pela secagem por seis períodos distintos: 10, 18, 24, 28, 32 e 40 horas.

Após esses períodos de espera pela secagem, as sementes foram despalhadas manualmente e, em seguida, submetidas à secagem com temperatura de 35°C até atingirem 13% de umidade. Em seguida, as amostras foram debulhadas manualmente, com retirada de impurezas por meio de peneiras. Foram classificadas e utilizadas sementes entre peneiras 16 e 24. Não foi realizado o tratamento químico das sementes. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel multifoliados e armazenadas em condição não controlada durante a condução dos testes.

A qualidade fisiológica foi avaliada mediante testes de germinação em papel, teste de emergência em canteiro e teste frio. Todos os testes foram conduzidos no laboratório de análises de sementes da empresa Hélix Sementes.

*Teste de germinação:* Semearam-se quatro repetições de 50 sementes em rolo de papel tipo “Germitest”, duas folhas, previamente umedecidas com água em quantidade correspondente a 2,5 vezes o peso do papel. Pós-semeio, os rolos foram mantidos em sala de germinação a 25°C, com avaliação de plântulas normais, conforme critérios Brasil (2009), com contagem única no sexto dia após a semeadura, conforme metodologia adaptada, sendo o resultado expresso em porcentagem.

*Teste de emergência em canteiro:* Semearam-se quatro repetições de 50 sementes em canteiros contendo areia como substrato, umedecida a 60% da capacidade de irrigação. Aos sete dias após a semeadura, realizou-se a contagem final do número de plântulas emergidas.

*Teste frio:* Foram semeadas quatro repetições de 50 sementes em bandejas plásticas contendo mistura de areia e terra, na proporção de 2:1 e umidade ajustada para 70% da capacidade de retenção; as bandejas plásticas foram mantidas em câmara fria a 10°C, por sete dias e, então, transferidas para câmaras de germinação a 25°C por sete dias e, assim, avaliadas as plântulas normais emergidas (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC) em esquema fatorial 4x6x2, envolvendo diferentes combinações dos parentais, seis tempos de espera pela secagem e duas temperaturas durante a espera. Foram analisadas as médias das duas safras agrícolas.

Após análises das pressuposições estatísticas, os dados foram submetidos à análise de variância com auxílio do *software* R (R CORE TEAM, 2019), a 5% de probabilidade pelo teste F ( $p < 0,05$ ). As médias foram comparadas utilizando-se Tukey a 5% e realizadas análises de regressões polinomiais, com o ajuste de modelos matemáticos significativos a 5%, com maior coeficiente de determinação e com relação biológica adequada.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação tripla, genótipo, tempo e temperatura de retardamento de secagem para todos os testes fisiológicos (Anexo A).

#### *Germinação*

Em relação aos efeitos das temperaturas durante o retardo de secagem, a temperatura de 48°C proporcionou maior efeito depreciativo nos genótipos ao longo dos períodos de retardamento da secagem (Tabela 1).

Mesmo no início do retardamento, com apenas 10 horas, a temperatura de 48°C, deteriorou as sementes da linhagem L2. Em todos os tempos de retardamento a 48°C, houve deterioração. O decréscimo da germinação das sementes em função da temperatura elevada se acentuou com o avanço do tempo de retardamento, principalmente para a L2. Para L1 essa temperatura causou problemas na germinação com 32 horas de atraso, para HR a 24 e 32 horas. Para HB não houve diferença em função da temperatura, mantendo sempre percentuais elevados. Com a ocorrência de 42°C, os efeitos deteriorativos foram menores, principalmente nos híbridos (Tabela 1).

Tabela 1 – Porcentagem de germinação de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) em função de temperaturas e períodos até a secagem.

Retardamento de secagem (horas)	Temperatura no retardamento (°C)	Materiais genéticos*			
		L1	L2	HB	HR
10	42	91 Ba	80 Ca	98 Aa	89 Ba
	48	94 Aa	77 Ba	95 Aa	91 Aa
18	42	93 Ba	80 Ca	99 Aa	94 Ba
	48	95 ABa	72 Cb	98 Aa	92 Ba
24	42	92 Ba	82 Ca	99 Aa	95 ABa
	48	90 Ba	74 Cb	98 Aa	90 Bb
28	42	88 Ba	82 Ca	98 Aa	89 Ba
	48	89 Ba	63 Cb	97 Aa	89 Ba
32	42	96 Aa	82 Ca	99 Aa	89 Ba
	48	92 Bb	76 Db	99 Aa	85 Cb
40	42	92 Ba	80 Ca	99 Aa	94 Ba
	48	90 Ba	59 Cb	97 Aa	94 ABa

CV (%) = 2,75%

Fonte: Costa (2019). \*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, em cada período de retardamento, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Até o limite de 40°C, 31% de umidade e 36 horas de espera pela secagem das espigas, Carvalho et al. (2019) não observaram efeitos negativos sobre a germinação de sementes híbridas de milho. Com 50°C, a germinação foi prejudicada com 31% de umidade e 36 horas de espera. Já Castro et al. (2015) observaram que não há perda na germinação de sementes de milho colhidas com até 40% de umidade quando submetidas ao retardamento de secagem sob 40°C por até 48 horas, o que reitera a importância do monitoramento de temperatura nesse processo. Em ambos os trabalhos, diante da ocorrência da temperatura extrema de 60°C, as perdas de germinação aconteceram nas primeiras horas de retardamento.

Além da temperatura no retardamento de secagem, danos e alterações fisiológicas podem ser provenientes do sistema de secagem, reduzindo a qualidade fisiológica das sementes. Esses danos e alterações podem ser intensificados no armazenamento (VERGARA et al., 2018).

Os efeitos da temperatura elevada, principalmente a 48°C, foram distintos entre os genótipos (Tabela 1). As linhagens foram mais sensíveis ao retardamento, sobretudo com temperatura elevada, com maior deterioração para L2, em que foram verificados baixos percentuais de germinação com 48°C desde o início do retardo, chegando a 59% de germinação ao final das 40 horas de retardamento. A linhagem 1 (L1) teve maior resistência, com percentuais próximos aos constatados para HR, com porcentagens acima de 88%. O híbrido (HB) foi mais tolerante ao retardamento e a elevadas temperaturas, com todos os percentuais acima de 95%. No híbrido recíproco (HR), apesar de híbrido, constatou-se maior sensibilidade, com germinação mais baixa. Nesse híbrido L2 foi usada como fêmea, linhagem que teve menores percentuais de germinação, indicativo que o uso da linhagem mais sensível como mãe pode influenciar a resistência do híbrido ao retardamento de secagem.

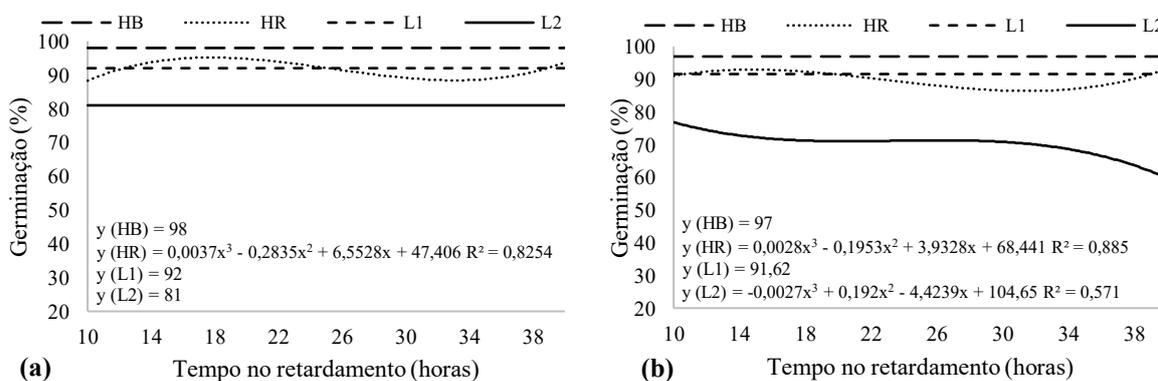
Gomes et al. (2000) atribuíram maior vigor às sementes híbridas em função do efeito heterótico que as mesmas possuem em relação às linhagens. Além disso, a constituição de uma semente híbrida pode ser diferente quanto ao posicionamento de seus parentais femininos e masculinos, uma vez que o híbrido pode ter características genótípicas e fenotípicas provenientes de efeito materno (JOSÉ et al., 2006; SANTOS et al., 2017). Para a tolerância a altas temperaturas durante o período de secagem em sementes de milho, provavelmente ocorre efeito materno (JOSÉ et al., 2004). A interação entre a herança genética, o grau de umidade da semente e a temperatura influencia no tempo e processo de deterioração de sementes (DELOUCHE, 2002).

Para tendência da germinação em função dos tempos de retardamento, com a temperatura de 42°C no ambiente (Figura 1a), não foram observadas diferenças para as linhagens L1 e L2 e para o híbrido HB, com médias correspondentes a 92%, 81% e 98%,

respectivamente. Apenas o HR teve redução na germinação a partir das 18 horas, com o menor percentual de germinação a 33 horas de retardamento. Todos os percentuais observados estavam acima de 80% (Figura 1a). Vale ressaltar que os padrões mínimos preconizados para comercialização de semente híbridas de milho é de 75% para semente básica e 85% em C1 e S1 (BRASIL, 2013).

Para a temperatura extrema, 48°C, não houve diferença entre os tempos para o híbrido HB, mantendo elevado valor médio de 97% de germinação (Figura 1b). Para sementes híbridas HR, o início da deterioração foi observado a partir das 14 horas, com o menor percentual de germinação a 32 horas. Para L1, não foi ajustado modelo, apresentando uma média de 91,62% de germinação ao longo dos períodos de retardamento de secagem. Esses genótipos, mesmo tendo sua germinação afetada pelos períodos de retardamento sob temperatura de 48°C, não tiveram percentuais abaixo de 85% de germinação. Já a linhagem L2, logo no primeiro período de retardamento avaliado, 10 horas, teve percentuais abaixo de 85%, sendo o processo de deterioração intensificado a partir das 27 horas de retardamento na secagem sob 48°C, demonstrando maior sensibilidade desse genótipo às condições de retardamento de secagem.

Figura 1 – Porcentagem de germinação de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos a temperatura de 42°C (a) e 48°C (b) durante o período até a secagem.



Fonte: Costa (2019).

As condições de elevadas umidade e temperatura, baixa ventilação entre a colheita e a secagem, se assemelham às que são utilizadas em alguns testes de vigor, como envelhecimento acelerado. Kavan et al. (2019) submeteram sementes de milho pipoca ao teste de envelhecimento acelerado, sob 42°C durante 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 horas e verificaram que a germinação e número de plântulas normais reduziram conforme prolongamento do tempo de exposição.

Além disso, Eichelberger et al. (2003) verificaram que, ao longo dos períodos de retardamento na secagem em sementes de azevém, a temperatura começou a se elevar nas primeiras 12 horas de retardamento, partindo de 28,9°C no momento da colheita para 43,1°C, chegando a 53,2°C quando os períodos foram prolongados até 38 horas de retardamento na secagem das sementes. Concluíram que a partir das 12 horas de retardamento na secagem dessas sementes, houve uma redução na porcentagem de germinação das sementes de azevém.

A combinação entre elevada umidade e temperatura na massa de sementes associadas à baixa ventilação ocasiona a perda de matéria seca e conseqüente redução na germinação e qualidade fisiológica de sementes de milho (SANTOS et al., 2012; VENÂNCIO et al., 2012).

#### *Teste de emergência em canteiro*

Assim como no teste de germinação, a ocorrência de 42°C proporcionou algumas depreciações na emergência (Tabela 2). Sob temperatura de 48°C, os danos foram proeminentes, não somente para as linhagens, mas também para as combinações híbridas. O efeito dessa temperatura foi mais acentuado na L2, que já nas primeiras 10 horas de retardamento reduziu de maneira significativa a capacidade de emergência, reiterando a menor tolerância desse genótipo, principalmente com o avanço do tempo até a secagem, com percentuais de 60% de emergência ao final das 40 horas a 48°C (Tabela 2).

Fessel et al. (2000) submeteram oito lotes de sementes de milho às temperaturas de 42°C e 45°C, com umidade máxima de 26% durante 72 e 96 horas, e concluíram que a maioria dos lotes teve redução na emergência de plântulas de milho, chegando a ter apenas 37% de emergência em campo.

Entre os genótipos, em ambas as temperaturas, as linhagens foram mais sensíveis, porém com maior tolerância para sementes de L1 em detrimento da L2, principalmente com a ocorrência de 48°C (Tabela 2). Gomes et al. (2000) verificaram menor capacidade de emergência de plântulas provenientes de linhagens quando comparadas à capacidade de emergência de seus híbridos.

A maioria das diferenciações apontaram maior qualidade para o híbrido HB, com percentuais acima de 85% (Tabela 2), seguido do híbrido HR, com uma maior sensibilidade em relação ao híbrido HB, pois no híbrido invertido HR, a linhagem L2 mais sensível foi utilizada como progenitor materno. O que reitera a importância não somente da escolha dos parentais, mas também a disposição deles, sendo o progenitor feminino relevante na definição da tolerância do híbrido ao retardamento de secagem.

Fato inerente ao processo de formação das sementes, especificamente do endosperma das sementes de milho, um órgão triploide (3n) que tem dois terços de sua constituição (2n) proveniente de seu parental materno e apenas um terço proveniente de seu parental paterno (1n) (MARCOS FILHO, 2015). O endosperma tem maior herança genética materna e, assim, influencia a tolerância a altas temperaturas durante a secagem das sementes (JOSÉ et al, 2004).

A influência materna é importante na produção de sementes híbridas de elevada qualidade, por isso é estudada em função de fatores bióticos e abióticos. Abreu et al. (2019), para a obtenção de híbridos tolerantes ao estresse hídrico, constataram efeitos recíprocos significativos, destacando a importância da escolha correta do genitor feminino.

Tabela 2 – Porcentagem de emergência de plântulas provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) em função de temperaturas e períodos até a secagem.

Retardamento de secagem (horas)	Temperatura no retardamento (°C)	Materiais genéticos*			
		L1	L2	HB	HR
10	42	87 Db	93 Ba	95 Aa	90 Cb
	48	89 Ba	81 Cb	93 Ab	92 Aa
18	42	88 Da	93 Ca	96 Aa	94 Ba
	48	87 Bb	72 Cb	96 Aa	87 Bb
24	42	88 Ca	88 Ca	99 Aa	92 Ba
	48	80 Cb	76 Db	97 Ab	83 Bb
28	42	83 Ca	95 Aa	95 Aa	92 Ba
	48	76 Cb	67 Db	95 Aa	89 Bb
32	42	89 Cb	93 Ba	98 Aa	92 Ba
	48	92 Ba	86 Cb	94 Ab	86 Cb
40	42	86 Da	93 Ca	97 Aa	94 Ba
	48	84 Bb	60 Cb	85 Bb	94 Aa

CV(%) = 1,6%

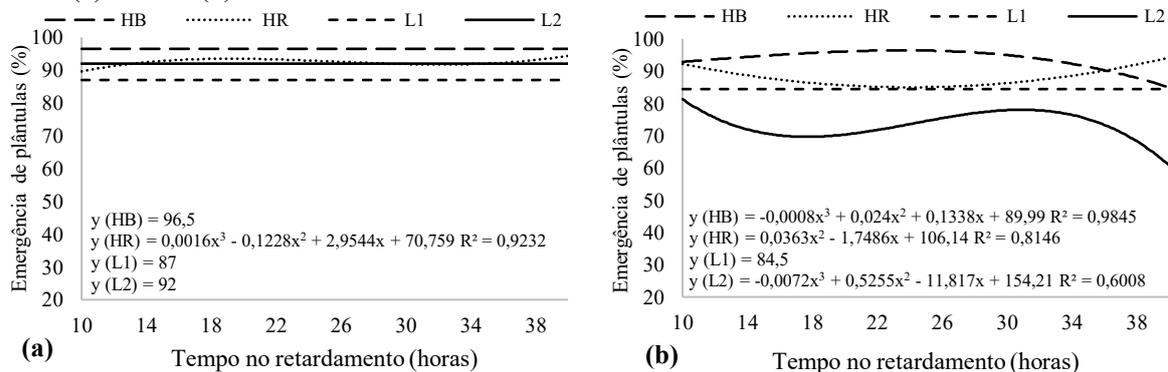
Fonte: Costa (2019). \*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, em cada período de retardamento, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Para tempo de espera, sob temperatura de 42°C, oscilações de porcentagem de emergência foram constatadas, porém com grande parte dos percentuais acima de 80% e sem oscilações acentuadas, mesmo com 40 horas de espera (Figura 2a).

Com 48°C, o híbrido HB manteve-se com porcentagens superiores, mesmo com o avanço da espera de secagem, exceto após 36 horas de espera (Figura 2b). Já o híbrido invertido HR apresentou ligeira queda até as 18 horas de atraso. A linhagem L1 não ajustou a nenhum modelo, apresentando média de 84,5% de emergência de plântulas normais em canteiro durante os períodos de retardamento na secagem, média essa que demonstra boa resistência dessa linhagem por se assemelhar aos percentuais de emergência de um híbrido, nas condições de

atraso de secagem e elevadas temperaturas. As emergências das sementes de L2 tiveram percentuais em patamares sempre abaixo dos demais ao longo dos períodos de retardamento, principalmente ao final de 40 horas de retardo a 48°C, reforçando a maior sensibilidade desse genótipo e os efeitos degradantes do tempo excessivo de espera pela secagem, como 40 horas (Figura 2b).

Figura 2 – Porcentagem de emergência de plântulas provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos a temperatura de 42°C (a) e 48°C (b).



Fonte: Costa (2019).

A secagem deve ser realizada o mais rápido possível após a colheita, sobretudo com colheitas de milho em espigas com elevada umidade, principalmente em épocas, regiões geográficas e condições que favoreçam a ocorrência de elevadas temperaturas, como é o caso de grande parte das regiões produtoras no Brasil. A temperatura de até 40°C, 31% de umidade e espera por até 36 horas não afetam a qualidade de sementes híbridas de milho, porém com 50°C, a partir de 24 horas, o vigor é prejudicado (CARVALHO et al. 2019).

### Teste frio

Os genótipos submetidos à temperatura de 42°C durante os períodos de retardamento de secagem tiveram depreciações pontuais (Tabela 3), com os percentuais acima de 90% ou próximos a esse valor, indicando que a ocorrência dessa temperatura, mesmo por até 40 horas de espera, não ocasionou deterioração em níveis avançados. Porém, com a temperatura 48°C, o menor vigor ocorreu principalmente para a L2 nos períodos de retardamento mais avançados (Tabela 3), confirmando a sensibilidade desse genótipo ao retardamento e alta temperatura.

Tabela 3 – Porcentagem de plântulas normais após teste frio, provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e

paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) em função de temperaturas e períodos até a secagem.

Retardamento de secagem (horas)	Temperatura no retardamento (°C)	Materiais genéticos*			
		L1	L2	HB	HR
10	42	91 Da	95 Ba	98 Aa	93 Ca
	48	91 Ca	93 Bb	97 Ab	92 Cb
18	42	94 Ca	98 ABa	99 Aa	96 Ba
	48	88 Cb	90 Bb	99 Aa	88 Cb
24	42	92 Ca	90 Db	98 Aa	96 Ba
	48	91 Cb	93 Ba	97 Ab	93 Bb
28	42	87 Ca	97 Aa	98 Aa	94 Bb
	48	79 Db	87 Cb	97 Ab	95 Ba
32	42	97 Ba	94 Da	99 Aa	96 Ca
	48	93 Bb	93 Bb	97 Ab	93 Bb
40	42	90 Cb	93 Ba	98 Aa	98 Aa
	48	91 Ba	74 Cb	96 Ab	96 Ab

CV(%) = 1,52

Fonte: Costa (2019). \*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, em cada período de retardamento, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

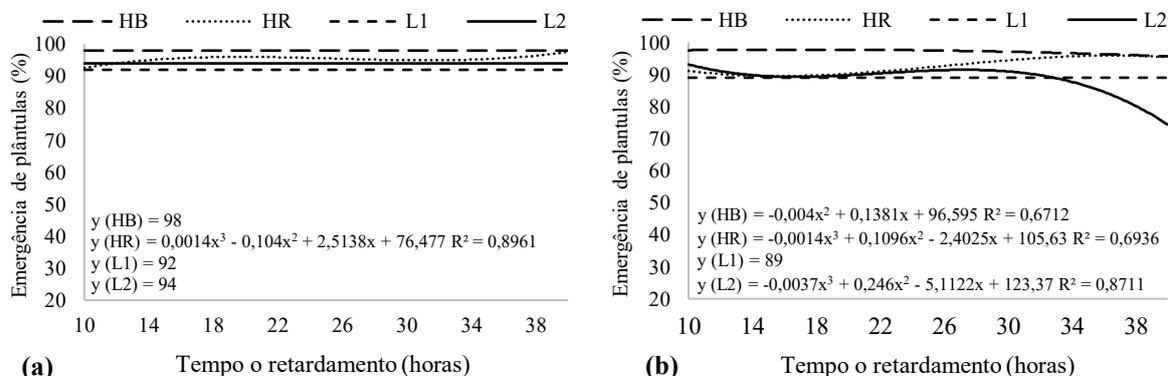
Castro et al. (2015) descreveram que sementes de milho com umidade entre 35 e 40% submetidas às temperaturas de 20 e 40°C mantêm uma boa emergência até a 40 horas de retardamento de secagem após o teste frio.

Entre os genótipos, o vigor das linhagens foi mais deteriorado em função da elevada temperatura e retardamento. O híbrido HB teve sementes mais vigorosas (Tabela 3). Na condição extrema, 48°C e 40 horas, sementes de L2 foram as menos vigorosas, com sementes de L1 com vigor intermediário e híbridos superiores.

Prazeres e Coelho (2016) verificaram que a maioria das linhagens avaliadas por teste frio tiveram menor vigor que os híbridos. Autores como José et al. (2006) e Santos et al. (2017) observaram menor vigor em híbrido recíproco quando comparado ao híbrido, bem como variação na composição dos açúcares nas sementes, sendo os mais tolerantes à alta temperatura de secagem os que tiveram maior quantidade de dissacarídeo (sacarose) e menores conteúdos de monossacarídeos (glicose e frutose).

Para o vigor ao longo do período de retardamento, com 42°C, todos os percentuais estavam acima ou próximos a 90%, mesmo sob 40 horas de retardamento (Figura 3a). Com 48°C, oscilações ocorreram principalmente para a linhagem L2, com efeitos acentuados de redução do vigor a partir de 27 horas, proporcionando vigor baixo para essa linhagem em relação aos demais ao final das 40 horas de espera pela secagem (Figura 3b).

Figura 3 – Porcentagem de plântulas normais após teste frio, provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1(L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos a temperatura de 42°C (a) e 48°C (b).



Fonte: Costa (2019).

Ocorrem mudanças no vigor das sementes de milho após o atraso de secagem, mesmo em temperaturas mais amenas (até 40°C), principalmente quando as sementes são colhidas com umidades mais elevadas, acima de 34% (CASTRO et al., 2015). Sementes híbridas colhidas com até 31% de umidade não têm sua viabilidade e vigor afetados até a temperatura de 40°C na massa de sementes com até 36 horas de retardamento de secagem. Porém, com a ocorrência de 50°C, o vigor é prejudicado a partir de 24 horas de espera pela secagem (CARVALHO et al. 2019).

Portanto, o monitoramento da temperatura da carga e do período entre a colheita, transporte, recebimento e secagem das espigas nas UBSs é fundamental para que seja mantida a qualidade das sementes de milho, com influência direta da disposição dos progenitores na construção do híbrido e tolerância ao retardamento de secagem.

#### 4 CONCLUSÕES

Com 35% de umidade nas sementes, a temperatura de 42°C afeta apenas a qualidade das sementes da linhagem menos tolerante (L2) ao retardamento. As linhagens reduziram sua qualidade nas primeiras 10 horas de retardamento de secagem sob temperatura de 48°C.

O período de 40 horas de retardamento à 42°C não afeta a qualidade das sementes híbridas, com 48°C o retardamento é prejudicial.

A disposição dos progenitores afeta a tolerância ao retardamento a secagem de sementes híbridas, sendo que a linhagem utilizada como progenitor feminino deve ser a mais tolerante.

## REFERÊNCIAS

ABREU, V. M.; VON PINHO, E. V. R.; MENDES-RESENDE, M. P.; BALESTRE, M.; LIMA, A. C.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, R. G. Combining Ability and Heterosis of Maize Genotypes under Water Stress during Seed Germination and Seedling Emergence. **Crop Science**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 33-43, 2019.

<https://doi.org/10.2135/cropsci2018.03.0161>

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

<https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 set. 2013. Seção I, 38p.

CARDOZO, N. P.; BORDONAL, R. O.; LA SCALA JÚNIOR, N. Sustainable intensification of sugarcane production under irrigation systems, considering climate interactions and agricultural efficiency. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 204, p. 861-871, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.004>

CARVALHO, E. R.; FRANCISCHINI, V. M.; AVELAR, S. A. G.; COSTA, J. C. Temperatures and periods of drying delay and quality of corn seeds harvested on the ears. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 3, p. 336-343, 2019.

<https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3218758>

CASTRO, M. B.; GUIMARÃES, R. M.; PEREIRA, D. S.; REIS, R. G. E. Physiological quality of maize seeds harvested with different moisture contents and submitted to drying delay. **Journal of Agriculture Food and Development**, Wuhan, v. 1, n. 1, p. 19-26, 2015.

<https://doi.org/10.30635/2415-0142.2015.01.5>

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos, v. 6 - Safra 2018/2019, n. 12 - Décimo segundo levantamento. Brasília, DF, 2019.

DELOUCHE, J. Germinação, deterioração e vigor da semente. **Seed News**, [s. l.], n. 6, p. 24-31, 2002.

EICHELBERGER, L.; MAIA, M. S.; PESKE, S. T.; MORAES, D. M. Efeito do retardamento da secagem na qualidade fisiológica de sementes armazenada de azevém anual. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 5, p. 643-650, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000500013>

FERREIRA, R. L.; SÁ, M. E. Contribuição de etapas do beneficiamento na qualidade fisiológica de sementes de dois híbridos de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 99-110, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000400011>

FERREIRA, V. F.; OLIVEIRA, J. A.; FERREIRA, T. F.; REIS, L. V.; ANDRADE, V.; COSTA NETO, J. Quality of maize seeds harvested and husked at high moisture levels. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 276-283, 2013.

<https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000300001>

FESSEL, S. A.; RODRIGUES, T. J. D.; FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D. Temperatura e período de exposição no teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 163-170, 2000.

<https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v22n2p163-170>

FROES, L. O.; FALQUETO, M. A. O.; CASTRO, M. V. L.; NAVES, M. M. V. Gérmen com pericarpo de milho desengordurado na formulação de biscoitos tipo *cookie*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 744-750, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000400028>

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

<https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v22n1p7-17>

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA, J. L. da. Controle genético da tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 03, p. 414-428, 2004.

<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v3n3p414-428>

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; DIAS, M. A. G. S. Açúcares e tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 60-68, 2006.

<https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000200008>

KAVAN, H. C.; CATÃO, H. C. R. M.; CAIXETA, F.; ROCHA, C. S.; CASTILHO, Í. M. Accelerated aging periods and its effects on electric conductivity of popcorn seeds. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 42, n. 1, p. 40-48, 2019.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES; 1999.

LORENZETTI, E. Comportamento de sementes de milho submetidas a diferentes condições e período de armazenamento. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 6, n. 1, p. 19-29, 2017.

MARCOS FILHO, J. Formação da semente. *In*: MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. p. 49-113.

MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M.; DOURADO-NETO, D.; PUPIM, T. L. DIAS, M. A. N. Vigor e sementes e desempenho de plantas de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 143-155, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000100018>

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

<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v15n1p124-133>

R CORE TEAM (2019). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna. 2019.

SANTOS, S. B.; MARTINS, M. A.; FARONI, L. R. D.; BRITO JÚNIOR, V. R. Perda de matéria seca em grãos de milho armazenados em bolsas herméticas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 674-682, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S1806-66902012000400008>

SANTOS, F. F.; DIRK, L. M. A.; BRUCE DOWNIE, A.; SANCHES, M. F. G.; VIEIRA, R. D. Reciprocal effect of parental lines on the physiological potential and seed composition of corn hybrid seeds. **Seed Science Research**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 206-216, 2017.

<https://doi.org/10.1017/S0960258517000095>

SILVA, D. H. R.; MENEGHELLO, G. E.; OLIVEIRA, S.; CAVALCANTE, J. A.; TUNES, L. M. População de plantas e desempenho produtivo de híbridos de milho oriundos de sementes com diferentes níveis de vigor. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v.11, n. 2, p. 01-04, 2016.

<https://doi.org/10.18378/rvads.v11i2.4173>

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS FILHO, J. Desempenho de sementes de diferentes genótipos de milho durante o armazenamento. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p.207-215. 2013.

VENÂNCIO, L. P.; LOPES, J. C.; MACIEL, K. S.; COLA, M. P. A. Teste do envelhecimento acelerado para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Enciclopédia Biosfera**, Jandaia, v. 8, n. 14, p. 899-906, 2012.

VERGARA, R. O.; CAPILHEIRA, A. F.; GADOTTI, G. I.; VILLELA, F. A. Intermittence periods in corn seed drying process. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 193-198, 2018.

<https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n2187373>

## **CAPÍTULO II – Expressões enzimáticas e tolerância ao retardamento de secagem em sementes híbridas de milho com diferentes disposições parentais**

### **RESUMO**

A disposição entre parentais influencia na produção de sementes híbridas de milho. Objetivou-se avaliar os efeitos da disposição dos parentais sobre a tolerância ao retardamento de secagem de sementes híbridas, a constituição genética e a relação com expressões enzimáticas. Os genótipos identificados como linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (mãe L1 X pai L2) e híbrido recíproco HR (mãe L2 X pai L1) foram colhidos em espigas próximas ao PMF, 35% de umidade. Sob a temperatura de 48°C, as espigas foram submetidas a três tempos de espera pela secagem artificial: 10, 24 e 40h. Utilizou-se DIC, fatorial 4 x 3. Foram avaliadas a qualidade fisiológica e a expressão da  $\alpha$ -amilase, bem como a abundância de LEA proteínas nas sementes. Houve diferenças entre os híbridos HB e HR quanto à tolerância ao retardamento de secagem sob temperatura de 48°C, com contribuição direta do progenitor feminino. Houve maior abundância de LEA proteínas, principalmente para as linhagens, quando o período de retardamento de secagem foi prolongado. As linhagens foram mais sensíveis ao retardamento de secagem sob alta temperatura, principalmente L2. As sementes da linhagem mais sensível tiveram menores expressões de alfa amilase.

**Palavras-chave:**  $\alpha$ -amilase. Deterioração. LEA proteínas. Qualidade fisiológica. Transporte.

## **CHAPTER II – Enzymatic expressions and tolerance to drying delay in hybrid corn seeds with different parental arrangements**

### **ABSTRACT**

Parental arrangement influences the production of hybrid corn seeds. The objective of this study was to evaluate the effects of parental arrangement on the tolerance to delayed drying of hybrid seeds, genetic constitution, and the relationship with enzymatic expressions. The genotypes identified as lineage 1 (L1), lineage 2 (L2), hybrid HB (mother L1 X father L2) and reciprocal hybrid RH (mother L2 X father L1) were harvested from ears, close to the physiological maturity point, 35% humidity. Under the temperature of 48 °C, the ears were submitted to three waiting times for artificial drying: 10, 24 and 40 hours. Completely randomized design (CRD) 4 x 3 factorial was used. The physiological quality and expression of  $\alpha$ -amylase and the abundance of LEA proteins in the seeds were evaluated. There were differences between the HB and RH hybrids in terms of tolerance to drying delay under 48 °C, with direct contribution from the female parent. There was a greater abundance of LEA proteins, especially for lineages, when the drying delay period was prolonged. The lineages were more sensitive to drying delay under high temperatures, mainly L2. The seeds of the most sensitive lineage had lower expressions of alpha amylase.

**Key words:**  $\alpha$ -amylase. Deterioration. Enzymes. LEA. Physiological quality.

## 1 INTRODUÇÃO

O posicionamento de linhagens parentais na produção de sementes híbridas de milho é determinante para se obter elevada produtividade e boa produtividade de sementes. Porém, produzir um híbrido com características desejáveis para a produção de sementes e sua aplicação na agricultura demanda conhecimento prévio das características dos genótipos parentais e da forma como essas serão repassadas para sua progênie.

Uma técnica muito comum entre os melhoristas para o controle genético dos caracteres é o cruzamento dialélico, que permite determinar todos os cruzamentos possíveis dentro de um determinado grupo de genótipos (MARCONDES et al., 2012). Através dessa análise, informações referentes ao controle genético dos caracteres, escolha de genitores e de populações segregantes são fornecidas. Assim, a escolha das linhagens é baseada na manifestação de heterose e capacidade combinatória entre genótipos (OLIBONI et al., 2013).

Sementes híbridas de milho são produtos da reprodução sexuada, a qual envolve a fecundação por meio de gametas feminino e masculino. Contudo, algumas características dessas sementes estão vinculadas diretamente com o parental feminino, evento também conhecido como efeito materno (SANTOS et al., 2017). Grande parte dos caracteres são controlados por genes nucleares, mas outro grupo de genes, presentes no citoplasma, são repassados exclusivamente pelo genitor materno (efeito materno) (JOSÉ et al., 2004b).

No milho, com a dupla fecundação, há a formação do zigoto, célula diploide ( $2n$ ), e o endosperma que é triploide ( $3n$ ), resultado da fusão entre os dois núcleos polares do óvulo,  $2n$  ( $\text{♀}$ ) e um núcleo de gameta masculino,  $1n$  ( $\text{♂}$ ), tendo maior influência do parental feminino,  $2n$  (MARCOS FILHO, 2015; PIERRE et al. 2011).

Dessa forma alguns autores, como Melo et al. (2017) e Santos et al. (2017), destacaram a importância da escolha correta do genitor feminino em cruzamentos para a obtenção de híbridos, uma vez que o efeito materno foi decisivo na manifestação da maioria das características referentes ao aumento da produtividade de milho.

A fim de verificar o efeito materno nas sementes de milho e sua influência na transmissão de características, tem sido feita a inversão de parentais, resultando no que é conhecido como híbrido recíproco (SANTOS et al., 2017).

A obtenção de híbridos recíprocos também é uma prática comum no melhoramento genético, auxiliando no posicionamento de genótipos como parentais femininos e masculinos em uma combinação híbrida. Assim, se o resultado dos cruzamentos não for igual, tanto para o híbrido quanto para seu recíproco, tem-se o efeito materno sobre determinada característica, ou

seja, a herança de genes provenientes do citoplasma e núcleo do genitor feminino (BALDISSERA et al., 2012; SANTOS et al., 2017). Por isso, a correta disposição dos progenitores como feminino e masculino é relevante no processo de melhoramento e de produção de sementes híbridas, pois muitas vezes são relatados efeitos recíprocos para algumas tolerâncias, tanto para estresses bióticos quanto abióticos (ABREU et al., 2019).

Entre os estresses abióticos que tem ocorrido com frequência na produção de sementes híbridas de milho, sobretudo em regiões com climas mais quentes e tropicais, como o Brasil Central, pode-se citar o retardamento de secagem, que é o resultado de grandes períodos de tempos entre a colheita do milho em espiga, com aproximadamente 35% de umidade, até a secagem. Isso tem causado muitos problemas no processo produtivo e na qualidade fisiológica das sementes, devido ao ambiente com altas temperaturas e umidades, além da baixa ventilação (CARVALHO et al., 2019; CASTRO et al., 2015). Assim, estudos da relação entre genótipos e constituições das sementes que levem à obtenção de combinações híbridas e materiais mais tolerantes a essas condições são necessários.

Além dos testes fisiológicos para qualidade, outras técnicas como estudo de enzimas e proteínas podem ser utilizadas para auxiliar o entendimento e otimizar tomadas de decisões em programas de melhoramento e também durante a produção de sementes, em relação à tolerância ao retardamento de secagem de milho.

Em situações de estresse, como o aumento da temperatura e ausência de oxigênio na massa de sementes, enzimas presentes no metabolismo das sementes atuam na defesa das mesmas, aumentando ou reduzindo suas atividades nas reações (CARNEIRO et al., 2011).

Dessa forma, a avaliação da expressão enzimática como a de proteínas resistentes ao calor (LEA) e atividade da enzima  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -AM) podem ser úteis para avaliar o quanto afetadas as sementes de milho são quando se aumenta a temperatura na massa de sementes (CASTRO et al., 2015; GUIMARÃES et al., 2010).

Em função disso, objetivou-se avaliar a expressão enzimática e qualidade fisiológica em sementes de milho em função de sua constituição genética, híbrido, híbrido recíproco e linhagens parentais, em condições de retardamento de secagem e ocorrência de elevadas temperaturas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os campos de produção das sementes situavam-se no município de Paracatu (MG), 17°13'21" Sul e 46°52'31" Oeste, altitude média de 688 metros, precipitação média anual de 1.418,8 mm, temperatura média anual entre 8,2°C mín. e 31,2°C máx. (CARDOZO et al., 2018). O clima da região, de acordo com Köppen, é classificado como Aw, clima tropical com chuvas de verão (ALVARES et al., 2013).

Os experimentos e avaliações foram conduzidos em parceria entre a Universidade Federal de Uberlândia, Universidade Federal de Lavras e a empresa Hélix Sementes, Patos de Minas - MG. O ensaio foi semeado na safra 2018/2018, com semeadura em março de 2018. Os genótipos semeados pertencem ao programa de melhoramento da empresa Hélix Sementes.

Semeou-se a linhagem 1 (L1) e, por autofecundação, foram produzidas as sementes da linhagem para análise; o mesmo procedimento foi realizado para a linhagem 2 (L2). A obtenção das sementes híbridas foi por meio de polinização controlada; *a priori*, foi estabelecido que, para o primeiro híbrido, a linhagem 1 (L1) seria usado como progenitor materno e linhagem 2 (L2) como progenitor paterno, obtendo, assim, as sementes híbridas (HB). E para o segundo híbrido, o híbrido recíproco (HR), inverteu-se os progenitores masculinos e femininos, sendo L2 utilizada como feminino e L1 como masculino.

Todos os cuidados para isolamento, controle, eficiência de polinização e garantia da pureza genética foram tomados. As emascações foram realizadas mecanicamente e repassadas manualmente.

As espigas foram colhidas manualmente no momento em que as sementes estavam próximas à maturidade fisiológica, 35% de teor de água. Foram colhidas manualmente 120 espigas por material genético, com posterior separação aleatória de 10 espigas para cada tempo de retardamento de secagem. Todas as espigas foram colhidas no início da manhã.

As espigas, ainda empalhadas, foram acondicionadas em sacos plásticos trançados em polietileno de alta densidade, tipo Raschel (possibilita equilíbrio de umidade e temperatura com ambiente) e, em seguida, encaminhadas às câmaras tipo BOD (*Biochemical Demand Oxigen*), sem luz e sem ventilação, com temperatura interior de 48°C. As espigas permaneceram à espera pela secagem por três períodos distintos: 10, 24 e 40 horas.

Após esses períodos de espera pela secagem, as sementes foram despalhadas manualmente e, em seguida, submetidas à secagem com temperatura de 35°C até atingirem 13% de umidade. Em seguida, as amostras foram debulhadas manualmente, com retirada de impurezas por meio de peneiras. Foram classificadas e utilizadas sementes entre peneiras 16 e

24. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel multifoliados e armazenadas em condição não controlada durante a condução dos testes. Não foi realizado o tratamento químico das sementes.

A qualidade fisiológica foi avaliada mediante testes de germinação em papel, teste de emergência em canteiro e teste frio. Todos os testes foram conduzidos no laboratório de análises de sementes da empresa Hélix Sementes.

*Teste de germinação:* Semeou-se quatro repetições de 50 sementes em rolo de papel tipo “Germitest”, duas folhas, previamente umedecidas com água em quantidade correspondente a 2,5 vezes o peso do papel. Pós-semeio, os rolos foram mantidos em sala de germinação a 25°C, com avaliação de plântulas normais, conforme critérios Brasil (2009), com contagem única no sexto dia após a semeadura, conforme metodologia adaptada, sendo o resultado expresso em porcentagem.

*Teste de emergência em canteiro:* Semearam-se quatro repetições de 50 sementes em canteiros contendo areia como substrato, umedecida a 60% da capacidade de irrigação. Aos sete dias após a semeadura, realizou-se a contagem final do número de plântulas emergidas.

*Teste frio:* Foram semeadas quatro repetições de 50 sementes em bandejas plásticas contendo mistura de areia e terra, na proporção de 2:1 e umidade ajustada para 70% da capacidade de retenção; as bandejas plásticas foram mantidas em câmara fria a 10°C, por sete dias e, então, transferidas para câmaras de germinação a 25°C por sete dias e, então, avaliadas as plântulas normais emergidas (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Outra parte das amostras foi levada para o laboratório central de sementes, Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras, para avaliação da expressão enzimática de proteínas resistentes ao calor e  $\alpha$ -AM.

*Proteínas resistentes ao calor (LEA proteínas):* as sementes foram trituradas na presença de polivinilpirrolidone (PVP) e nitrogênio líquido e pesadas em amostras de 100 mg para cada material. Posteriormente, foi adicionada às amostras 1 mL de solução tampão de extração (50 mM de Tris-HCl pH 7,5; 500 mM de MgCl<sub>2</sub>; 1 mM de PMSF). As amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante incubado em banho-maria a 85°C por 15 minutos e novamente centrifugado como anteriormente. O sobrenadante foi vertido em novos tubos. Foram aplicados 50  $\mu$ L de cada amostra em gel de poliacrilamida 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). O tampão de corrida utilizado foi o Tris-glicina + SDS pH 8,9 e a corrida eletroforética realizada em sistema vertical à temperatura ambiente e voltagem constante de 150V por quatro horas. Após a corrida, os géis foram corados em solução de Coomassie Brilliant Blue a 0,05% por 24 horas e descorados em solução de etanol/ácido

acético/água a 5:10:85. A avaliação dos géis foi realizada sobre transluminador, sendo considerada a variação de intensidade das bandas (ALFENAS, 2006).

*Alfa amilase ( $\alpha$ -AM)*: as sementes foram embebidas em papel tipo “Germitest” por um período de 24 horas à temperatura de 35°C. Logo depois foram trituradas na presença de polivinilpirrolidone (PVP) e nitrogênio líquido e pesadas amostras de 100 mg para cada material. Para a extração, foi utilizado o tampão Tris HCl 0,2 M pH 8,0 + 0,1% de  $\beta$  mercaptoetanol, adicionando em cada amostra 250  $\mu$ l da solução tampão de extração. As amostras foram homogeneizadas no vortex e mantidas em geladeira por 12 horas. Posteriormente, foram centrifugadas a 10.000 rpm a 4°C durante 30 minutos. A corrida eletroforética foi realizada em sistema de géis de poliacrilamida descontínuo, a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador) + 0,5% de amido. O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50  $\mu$ L do sobrenadante da amostra e a corrida efetuada a 120 V, por seis horas. A revelação foi realizada segundo Alfenas (2006). A avaliação dos perfis isoenzimáticos foi realizada de acordo com a presença, ausência e intensidade de bandas.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC) em esquema fatorial 4x3, envolvendo quatro combinações dos parentais (genótipos) e três tempos de espera pela secagem artificial.

Após análises das pressuposições estatísticas, os dados foram submetidos à análise de variância com auxílio do *software* R (R CORE TEAM, 2019) a 5% de probabilidade pelo teste F ( $p < 0,05$ ). As médias foram comparadas utilizando-se Tukey a 5% e realizadas análises de regressões polinomiais com o ajuste de modelos matemáticos significativos a 5%, com maior coeficiente de determinação e com relação biológica adequada.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi constatada interação significativa entre genótipos e tempo de retardamento para todos os testes de qualidade fisiológica, com coeficientes de variação entre 1 e 4% (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise de variância dos resultados referentes aos testes de qualidade fisiológica realizados em quatro genótipos de milho-semente submetidos ao retardamento de secagem sob temperatura de 48°C durante diferentes tempos na safra 2018.

FV	GL	Quadrados médios		
		Germinação	Emergência Canteiro	Vigor
Genótipos (G)	3	2201,19**	2312,56**	386,08**
Tempo retardamento (R)	2	112,56**	371,58**	480,08**
G*R	6	129,06**	398,81**	290,75**
Resíduo	36	12,80	0,61	0,81
CV (%)		4,18%	0,97%	1%

Fonte: Costa (2019). \*Significativo em nível de 5% de probabilidade, pelo teste F ( $p < 0,05$ ). \*\*Significativo em nível de 1% de probabilidade, pelo teste F ( $p < 0,01$ ).

A interação entre os genótipos e tempos de espera pela secagem ressaltou o melhor desempenho do híbrido HB em todos os testes fisiológicos em que foi submetido, tendo percentuais médios superiores a 85% de germinação e emergência. O híbrido recíproco HR e a linhagem L1 também tiveram comportamentos semelhantes em alguns testes fisiológicos durante os períodos de retardamento na secagem. Já a linhagem L2 teve menor tolerância aos períodos de retardamento na secagem, evidenciando grande efeito deletério na viabilidade e vigor desse genótipo quando submetido a elevadas temperaturas, 48°C, durante períodos de retardamento na secagem (Tabela 2).

Quando ocorreram diferenças entre os híbridos, em todas as situações o HB foi superior ao HR, com apenas uma exceção (Tabela 2), demonstrando comportamentos diferenciais quanto à tolerância ao retardamento de secagem em função das disposições dos parentais. Uma possível explicação é o efeito materno que cada linhagem pode desempenhar na produção de cada híbrido, visto que a linhagem materna do híbrido HB é a linhagem L1; já no HR, o progenitor feminino é a L2, linhagem com menor tolerância. Buscando obter híbridos tolerantes ao estresse hídrico, Abreu et al. (2019) observaram efeitos recíprocos significativos, destacando a importância da escolha correta do genitor feminino visando essa característica. Vries et al. (2015) observaram que os efeitos maternos contribuíram com 36% da variação fenotípica para o peso de sementes híbridas de milho. O efeito materno pode ainda determinar outras características fenotípicas (CHEN et al., 2010) como a cor do pericarpo (RON-PARRA et al., 2018), assim como a constituição estrutural da semente, uma vez que o pericarpo é um tecido

exclusivamente de origem materna, influenciando no desempenho de sementes híbridas e seus respectivos cruzamento recíprocos (SANTOS et al., 2017).

Também foi observado que as linhagens tiveram menor desempenho que os híbridos estudados, sobretudo L2 (Tabela 2). Esse resultado pode ser em função do ganho em heterose que os híbridos têm em relação às linhagens (CHEN et al., 2010). Avaliando o desempenho de híbridos e linhagens, Abreu et al. (2019) também observaram maior desempenho de seus híbridos que suas respectivas linhagens quando submetidos ao estresse hídrico.

Tabela 2 – Porcentagem de germinação, emergência plântulas e emergência de plântulas normais após teste frio provenientes de sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) sob temperatura de 48°C com retardamentos de secagem em 10, 20 e 40h.

Germinação				
Retardamento de secagem	Genótipos*			
	L1	L2	HB	HR
10	91,00 Aa	74,50 Ba	92,75 Aa	90,00 Aa
24	92,50 ABa	68,00 Cb	98,00 Aa	90,00 Ba
40	88,00 Ba	54,00 Cc	95,00 Aa	93,00 ABa
Emergência em canteiro				
Retardamento de secagem	Genótipos			
	L1	L2	HB	HR
10	83,50 Ca	76,50 Da	87,00 Bc	90,00 Aa
24	80,50 Cb	66,50 Db	96,50 Aa	86,00 Bb
40	78,00 Cc	40,00 Dc	92,00 Ab	90,50 Ba
Teste Frio (Vigor)				
Retardamento de secagem	Genótipos			
	L1	L2	HB	HR
10	87,50 Cb	94,50 Ba	96,00 ABa	97,00 Aa
24	91,50 Ba	91,50 Bb	95,00 Aa	92,50 Bb
40	86,50 Bb	62,00 Cc	92,50 Ab	94,00 Ab

Fonte: Costa (2019). \*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, em cada período de retardamento, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

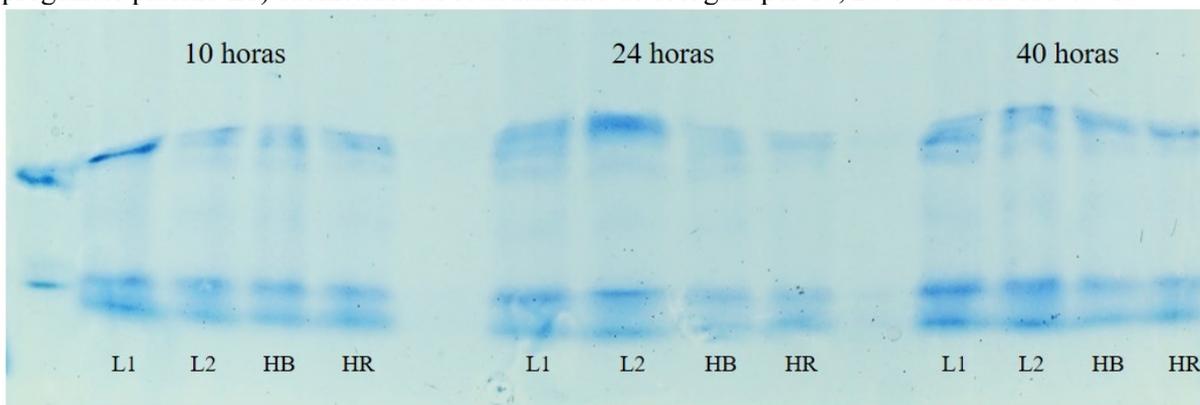
De modo geral, os genótipos reduziram a viabilidade e vigor quando submetidos a 40 horas de retardamento de secagem, sendo que os híbridos HB e HR mantiveram médias acima de 90% (Tabela 2). As linhagens com o avanço do período de retardamento reduziram sua qualidade fisiológica, com percentuais médios mínimos de 78% para L1 e percentuais baixos para a linhagem L2: percentagens mínimas de 40%.

Resultados encontrados por Castro et al. (2015) e Carvalho et al. (2019) corroboram os encontrados deste trabalho. Esses autores verificaram que sementes de milho com umidade

acima de 34% tiveram mudanças no vigor a partir das 40 horas de retardamento para a secagem, principalmente quando ocorrem temperaturas acima de 40°C.

Avaliando a atividade bioquímica desses genótipos submetidos ao retardamento de secagem, verificou-se que houve diferença entre os tempos de retardamento de secagem para a abundância das proteínas resistentes ao calor – LEA proteínas (*late embryogenesis abundant proteins*), de forma que, ao avançar no período de espera pela secagem, houve maior acúmulo de LEA proteínas, principalmente pelas linhagens que sofreram com o retardamento de colheita (Figura 1).

Figura 1 – Padrão eletroforético de proteínas resistentes ao calor (*late embryogenesis abundant proteins* – LEA proteínas) em sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos ao retardamento de secagem por 10, 24 e 40 horas sob 48°C.



Fonte: Costa (2019).

José et al. (2005) concluíram que os padrões de LEA proteínas são mais estáveis em linhagens e que os padrões estabelecidos entre sementes híbridas e seus recíprocos foram semelhantes, independentemente do método de secagem utilizado. Ademais, a diferença entre o acúmulo em diferentes genótipos de milho pode estar relacionada à elevada capacidade de polimorfismo das LEA proteínas.

O polimorfismo pode estar relacionado a diferentes condições de expressão das proteínas LEA, já que o genótipo, estágio de desenvolvimento, estresse hídrico e processos de deterioração controlada influenciam na expressão dos genes codificadores dessas proteínas (ABREU et al., 2016; ANDRADE et al., 2013; DUTRA et al., 2015).

As LEA proteínas geralmente são sintetizadas na fase de maturação das sementes, antes ou durante a secagem, e evitam que altas temperaturas prejudiquem as membranas celulares (JOSÉ et al., 2004a), principalmente pela redução dos teores de água nas sementes (TAVEIRA et al., 2012). De acordo com Andrade et al. (2013), essas proteínas podem ser relacionadas à

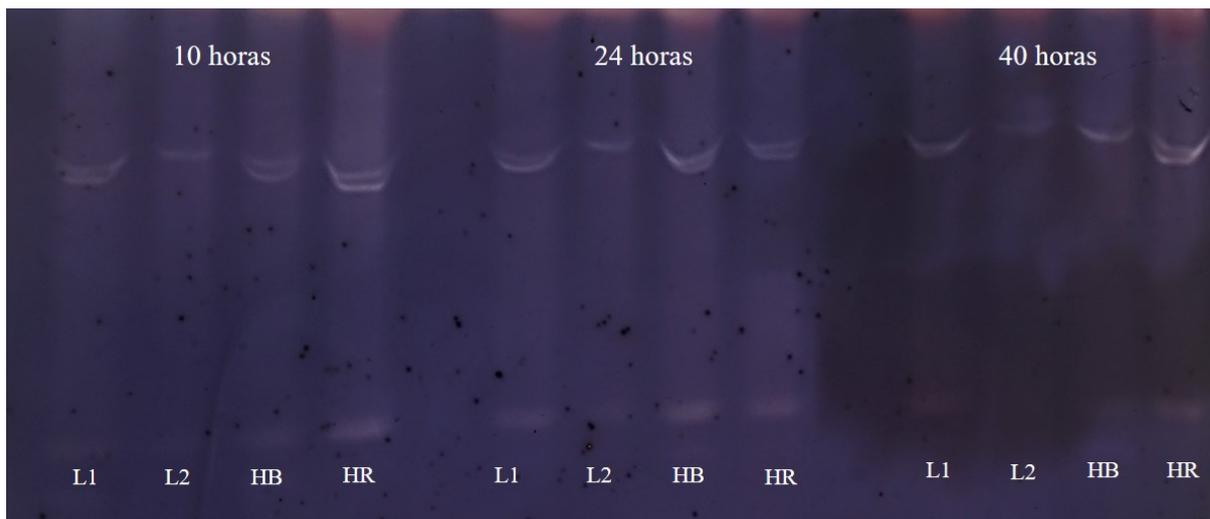
elevada taxa de germinação e vigor em sementes de milho. No entanto, elas são mais estudadas em processos de desidratação de sementes; logo, sua atividade geralmente é vinculada à capacidade de proteção do citoplasma e das membranas quando ocorre o processo de secagem sob altas temperaturas. No presente estudo envolvendo tolerâncias aos retardamentos antes da secagem das sementes, a abundância das LEA proteínas (Figura 1) foi inversa à qualidade fisiológica das sementes (Tabela 2).

Nakada et al. (2011) e Andrade et al. (2013) verificaram que o aparecimento e consequente acúmulo de LEA proteínas foi maior quando o processo de maturação das sementes estava em estágio mais avançado em alguns genótipos. Portanto, pode-se inferir que os genótipos e, talvez, estágio de desenvolvimento das sementes podem ter influenciados, resultando na maior expressão dos diferentes genes de LEA proteínas nas linhagens.

As sementes das linhagens tiveram menor expressão da enzima  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -AM) em relação aos híbridos logo no início do período de retardamento, 10 horas, e, entre as linhagens, L2 teve menor expressão (Figura 2). Essa diferença se manteve com o aumento do tempo de espera pela secagem, 24 e 40 horas, com uma expressão ainda menor da linhagem L2 em relação aos demais genótipos com o avanço das condições de estresse.

A menor expressão de  $\alpha$ -AM nas linhagens, sobretudo na linhagem 2 (Figura 2), está diretamente relacionada a menor qualidade fisiológica dessas sementes sob atraso com alta temperatura até a secagem (Tabela 1). A enzima  $\alpha$ -AM é sintetizada na camada de aleurona assim que as sementes de milho são embebidas, participando da hidrólise do amido, atividade que converte reservas insolúveis em carboidratos que são usados para o crescimento embrionário, possibilitando o processo germinativo. Contudo, sementes de milho que passam pelo processo de deterioração tendem a ter o metabolismo dessa enzima alterado, reduzindo a produção de  $\alpha$ -AM e, conseqüentemente, a germinação. Dessa forma, a deterioração por meio da elevada temperatura e alta umidade ao longo do tempo reduz o percentual de germinação e vigor, uma vez que estão diretamente relacionados com a expressão da enzima  $\alpha$ -AM (HENNING et al., 2010; LOPES et al. 2017; OLIVEIRA et al., 2013; PIMENTEL et al., 2012; SANTOS et al., 2015; TIMÓTEO; MARCOS-FILHO, 2013; WATTANAKULPAKIN et al., 2012).

Figura 2 – Padrão eletroforético da enzima  $\alpha$ -amilase em sementes de quatro genótipos de milho, sendo a linhagem 1 (L1), linhagem 2 (L2), híbrido HB (progenitor materno L1 e paterno L2) e seu híbrido recíproco HR (progenitor materno L2 e progenitor paterno L1) submetidos ao retardamento de secagem por 10, 24 e 40 horas sob 48°C.



Fonte: Costa (2019).

A enzima  $\alpha$ -AM também pode estar relacionada com a tolerância ao calor em sementes de milho (ANDRADE et al., 2013). Rosa et al. (2004) verificaram que sementes de milho secas a 50°C expressam, em estádios sensíveis à dessecação, menor desempenho fisiológico e menor atividade da enzima  $\alpha$ -AM. Portanto, essa enzima pode ser utilizada como marcador de qualidade sobre a tolerância a altas temperaturas de secagem em sementes de milho (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

As sementes híbridas expressaram maiores intensidades de bandas de  $\alpha$ -amilase (Figura 2), com reflexos sobre a qualidade fisiológica (Tabela 1). Lopes et al. (2017) ressaltam que a qualidade fisiológica de sementes de milho está relacionada ao genótipo. Portanto, alguns autores relacionam a diferença entre híbridos e linhagens em função da heterose adquirida pelas sementes híbridas. Reis et al. (2011) afirmam que a heterose proporciona maior vigor híbrido na germinação de sementes. Oliveira et al. (2013), por sua vez, afirmam que linhagens de milho geralmente são menos vigorosas que seus respectivos híbridos. Lopes et al. (2017) constataram maior eficiência do metabolismo e dos sistemas enzimáticos em sementes híbridas quando comparadas com linhagens de milho, promovendo rápido crescimento do eixo embrionário e maior germinação das sementes.

Portanto, associação dos testes de qualidade fisiológica junto à avaliação da expressão enzimática auxilia no melhor esclarecimento sobre a constituição genética e os processos bioquímicos e fisiológicos pelos quais as sementes passam quando são submetidas ao processo de deterioração (LOPES et al., 2017).

#### 4 CONCLUSÕES

Os híbridos são mais resistentes ao retardamento de secagem que as linhagens. A linhagem L2 é o genótipo menos tolerante ao retardamento de secagem.

Há diferenças entre as tolerâncias dos híbridos e seus recíprocos quanto ao retardamento de secagem, com influência direta do progenitor feminino.

Com o prolongamento do período de retardamento de secagem, ocorre maior abundância de LEA proteínas, principalmente nas linhagens.

As sementes das linhagens mais suscetíveis ao retardamento de secagem apresentam menores expressões de alfa amilase.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, V. M.; COSTA NETA, I. S.; VON PINHO, E. V. R.; NAVES, G. M. F.; GUIMARÃES, R. M.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, R. G. Heat-resistant protein expression during germination of maize seeds under water stress. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 3, p. 1-8, 2016.  
<https://doi.org/10.4238/gmr.15038535>
- ABREU, V. M.; VON PINHO, E. V. R.; MENDES-RESENDE, M. P.; BALESTRE, M.; LIMA, A. C.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, R. G. Combining Ability and Heterosis of Maize Genotypes under Water Stress during Seed Germination and Seedling Emergence. **Crop Science**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 33-43, 2019.  
<https://doi.org/10.2135/cropsci2018.03.0161>
- ALFENAS, A. C. (ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.  
<https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- ANDRADE, T.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; OLIVEIRA, G. E.; ANDRADE, V.; FERNANDES, J. S. Physiological quality and gene expression related to heat-resistant proteins at different stages of development of maize seeds. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 3, p. 3630-3642, 2013.  
<https://doi.org/10.4238/2013.September.13.7>
- BALDISSERA, J. N. C.; VALENTINI, G.; COAN, M. M. D.; ALMEIDA, C. B.; GUIDOLIN, A. F.; COIMBRA, J. L. M. Capacidade combinatória e efeito recíproco em características agrônômicas do feijão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 471-480, 2012.  
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n2p471>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009.
- CARDOZO, N. P.; BORDONAL, R. O.; LA SCALA JÚNIOR, N. Sustainable intensification of sugarcane production under irrigation systems, considering climate interactions and agricultural efficiency. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 204, p. 861-871, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.004>
- CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A. MORAES, D. M. de. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p.0-0, 2011.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000400017>

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: Funep, 2012.

CARVALHO, E. R.; FRANCISCHINI, V. M.; AVELAR, S. A. G.; COSTA, J. C. Temperatures and periods of drying delay and quality of corn seeds harvested on the ears. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 3, p. 336-343, 2019.  
<https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3218758>

CASTRO, M. B.; GUIMARÃES, R. M.; PEREIRA, D. S.; REIS, R. G. E. Physiological quality of maize seeds harvested with different moisture contents and submitted to drying delay. **Journal of Agriculture Food and Development**, Wuhan, v. 1, n. 1, p. 19-26, 2015.  
<https://doi.org/10.30635/2415-0142.2015.01.5>

CHEN, Z. J. Molecular mechanisms of polyploidy and hybrid vigor. **Trends In Plant Science**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 57-71, 2010.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.003>

DUTRA, S. M. F.; VON PINHO, E. V. R.; SANTOS, H. O.; LIMA, A. C.; VON PINHO, R. G.; CARVALHO, M. L. M. Genes related to high temperature tolerance during maize seed germination. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, p. 18047-18058, 2015.  
<https://doi.org/10.4238/2015.December.22.31>

GUIMARÃES, M. A.; VIDIGAL, D. S.; LOUREIRO, M. E.; DIAS, D. C. F. S.; GUIMARÃES, A. R. Influência de temperatura, luz e Giberelina na germinação de sementes de *Thlaspi caerulescens* J. Presl & C. Presl (Brassicaceae). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 3, p. 372-376, 2010.  
<https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000300013>

HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; JACOB JÚNIOR, E. A.; MACHADO, R. D.; FISS, G.; ZIMMER, P. D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.  
<https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000300026>

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; SALGADO, K. C. D. C.; VON PINHO, R. G. Identificação de cultivares de milho por meio de proteínas resistentes ao calor. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 01, 2004a.  
<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v3n1p1-9>

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA, J. L. Controle genético da tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 03, p. 414-428, 2004b.  
<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v3n3p414-428>

JOSÉ, S. C. B. R.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; SILVEIRA, C. M. Padrão eletroforético de proteínas resistentes ao calor em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 2, p. 115-121, 2005.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000200003>

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES; 1999.

LOPES, C. A.; CARVALHO, M. L. M.; SANTOS, H. O.; ANDRADE, D. B. Importância das amilases na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Biotemas**, Florianópolis, v. 30, n. 3, p. 1-7, 2017.

MARCONDES, M. M.; NEUMANN, M.; MARAFON, F.; ROSÁRIO, J. G.; FARIA, M. V. Aspectos do melhoramento genético de milho para a produção de silagem. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 5, n. 2, p. 173-192, 2012.

MARCOS FILHO, J. Formação da semente. *In*: MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. p. 49-113.

MELO, A. V.; TAUBINGER, M.; SANTOS, V. M.; CARDOSO, D. P.; VALE, J. C. Capacidade combinatória de milho para produção de grãos sob níveis de fósforo. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 4, n. 4, p. 15-25, 2017.  
<https://doi.org/10.13083/reveng.v25i5.765>

NAKADA, P. G.; OLIVEIRA, J. A.; MELO, L. C.; GOMES, L. A. A.; VON PINHO, E. V. R. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, p. 113-122, 2011.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000100013>

OLIBONI, R.; FARIA, M. V.; NEUMANN, M.; RESENDE, J. T. V.; BATTISTELLI, G. M.; TEGONI, R. G.; OLIBONI, D. F. Análise dialéctica na avaliação do potencial de híbridos de milho para a geração de populações-base para obtenção de linhagens. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 7-18, 2013.  
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n1p7>

OLIVEIRA, G. E.; VON PINHO, R. G.; ANDRADE, T.; VON PINHO, E. V. R.; SANTOS, C. D.; VEIGA, A. D. Physiological quality and amylase enzyme expression in maize seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 1, p. 40-48, 2013.  
<https://doi.org/10.1590/S1413-70542013000100005>

PIERRE, P. M. O.; DAVIDE, L. M. C.; COUTO, E. G. O.; SILVA, T. N.; RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. Duplo-haploides: estratégias para obtenção e importância no melhoramento genético do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2011.  
<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v10n1p1-16>

PIMENTEL, M. A.; VASCONCELLOS, M. C.; PENHA, R. O.; GUERRA, E. P.; SILVA, A. L. L. Ação de diferentes enzimas na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) - Asteraceae. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 3, n. 3, p. 1-4, 2012.  
<https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v3n3.pimentel>

R CORE TEAM (2019). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna. 2019.

REIS, L. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, R. F.; MEIRELES, R. C. Efeito da heterose na qualidade de sementes de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 310-315, 2011.

<https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000200013>

RON-PARRA, J.; MORALES-RIVERA, M. M.; JIMÉNEZ-LÓPEZ, J.; JIMÉNEZ-CORDERO, A. A.; LARLOS, L. D. L. C.; SÁNCHEZ-GONZALEZ, J. J. Maternal genetic inheritance of red pericarp in the grain of maize. **Maydica**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 1-5, 2018.

ROSA, S. D. V. F.; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; VEIGA, R. D. Indução de tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento à baixa temperatura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 290-310, 2004.

<https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v3n2p290-310>

SANTOS, H. O.; CARVALHO, R. D.; CATÃO, H. C. R. M.; PIRES, R. M. O.; VON PINHO, E. V. R. Enzymatic and physiological alterations of lines maize seeds submitted to different temperatures. **International Journal of Current Research**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. 23886-23891, 2015.

SANTOS, F. F.; DIRK, L. M. A.; BRUCE DOWNIE, A.; SANCHES, M. F. G.; VIEIRA, R. D. Reciprocal effect of parental lines on the physiological potential and seed composition of corn hybrid seeds. **Seed Science Research**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 206-216, 2017.

<https://doi.org/10.1017/S0960258517000095>

TAVEIRA, J. H. S.; ROSA, S. D. V. F.; BORÉM, F. M.; GIOMO, G. S.; SAATH, R. Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1511-1517, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012001000014>

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS FILHO, J. Desempenho de sementes de diferentes genótipos de milho durante o armazenamento. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p.207-215. 2013.

VRIES, B. D.; PETERS, T. E.; GLAZA, B. J.; VIESSELMANN, L. M.; TRACY, W. F. Estimating the genetic effects modifying endosperm composition in sugary1 maize. **Crop Science**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 578-588, 2015.

<https://doi.org/10.2135/cropsci2014.01.0084>

WATTANAKULPAKIN, P.; PHOTCHANACHAI, S.; RATANAKHANOKCHAI, K.; LAY KYU, K.; RITTHICHAJ, P.; MIYAGAWA, S. Hydropriming effects on carbohydrate metabolism, antioxidant enzyme activity and seed vigor of maize (*Zea mays* L.). **African Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 11, n. 15, p. 3537-3547, 2012.

<https://doi.org/10.5897/AJB11.3020>

## APÊNDICE A – Capítulo I - Resultados da análise de variância

Tabela 1 – Análise de variância dos resultados referentes aos testes de qualidade fisiológica realizados em quatro genótipos de milho-semente submetidos ao retardamento de secagem, por diferentes tempos e temperaturas.

FV	GL	Quadrados médios		
		Germinação	Emergência Canteiro	Vigor
Genótipos (G)	3	4376,31**	1380,56**	546,34**
Tempo retardamento (R)	5	53,24**	114,06**	54,78**
Temperatura (T)	1	536,67**	2366,02**	490,88**
G*R	15	52,42**	85,58**	73,12**
G*T	3	292,19**	761,28**	53,98**
R*T	5	36,46**	97,43**	39,07**
G*R*T	15	34,84**	78,14**	45,11**
Resíduo	144	5,66**	0,39**	0,46**
CV (%)		2,75%	1,60%	1,52%

Fonte: Costa (2019). \*Significativo em nível de 5% de probabilidade, pelo teste F ( $p < 0,05$ ). \*\*Significativo em nível de 1% de probabilidade, pelo teste F ( $p < 0,01$ ).