

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

LUCAS GERVÁSIO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA MACHO-ESTERILIDADE EM LINHAGENS DE MILHO, EM
DIFERENTES AMBIENTES**

**Uberlândia – MG
Novembro – 2011**

LUCAS GERVÁSIO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA MACHO-ESTERILIDADE EM LINHAGENS DE MILHO, EM
DIFERENTES AMBIENTES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Jonas Jäger Fernandes

**Uberlândia – MG
Novembro – 2011**

LUCAS GERVÁSIO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA MACHO-ESTERILIDADE EM LINHAGENS DE MILHO, EM
DIFERENTES AMBIENTES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 17 de novembro de 2011.

Eng. Agr. Gustavo Barnabé Biudes

Membro da Banca

Eng. Agr. Andressa Fernandes do Nascimento

Membro da Banca

Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes

Orientador

AGRADECIMENTOS

À Deus;

À família e amigos;

À Syngenta e seus funcionários colaboradores deste trabalho;

Ao Eng. Agr. Gustavo Barnabé Biudes;

Aos Professores Dr. Jonas Jäger Fernandes e Dr. Lísias Coelho;

À 43ª Turma de Eng. Agrônômica-UFU.

RESUMO

A semente híbrida de milho possui significativa importância no Brasil. Porém, o seu processo de produção comercial demanda utilização de técnicas a fim de não haverem contaminações no momento das polinizações, como a utilização das plantas produtoras das sementes (fêmeas) macho-estéreis. Essa técnica permite reduzir os riscos de contaminação na produção das sementes e garante um melhor aproveitamento do tempo do manejo, potencializando os resultados da produção e assegurando a pureza das sementes genéticas. A interação genótipo x ambiente é um fator importante que pode influenciar e alterar os níveis de macho-esterilidade dos materiais. O trabalho foi conduzido em duas áreas, Centralina-MG e Cristalina-GO, com condições ambientais distintas, em 2011. Os materiais foram avaliados visualmente em pendão sem anteras (Estéreis), pendões normais quanto a presença das anteras (Recuperação Total da fertilidade), e pendões com pouca quantidade de anteras, podendo o pólen estar viável ou não (Recuperação Parcial da fertilidade). Comprovou-se que a interação genótipo x ambiente foi significativa, sendo que altas temperaturas favorecem a manutenção da esterilidade nas linhagens de milho. Duas linhagens selecionadas destacaram-se em relação à manutenção da macho-esterilidade.

Palavras-chave: Fertilidade, Biotecnologia, Interação genótipos x ambientes, Linhagens de Milho.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5 CONCLUSÃO.....	17
REFERÊNCIAS	18

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento genético é um dos principais mecanismos utilizados para propiciar incremento de produtividade das culturas agricultáveis. Há algum tempo vem conquistando papel fundamental e de muito interesse dos produtores, das empresas multinacionais e até mesmo dos consumidores finais dos produtos industrializados.

Essa importância se deve ao fato de que a oferta de grãos não está comportando a crescente demanda mundial. O Brasil pode, então, ter uma participação fundamental neste mercado, uma vez que ainda se trabalha com níveis de produtividade muito aquém de outros países produtores como Estados Unidos e Argentina. (CONAB, 2011)

O milho é uma das principais culturas produzidas no Brasil, tendo papel fundamental nas produções em safrinha. As grandes empresas estão atentas à produção brasileira e à potencialidade de crescimento apresentada pelo país. O milho deixa de ser uma cultura secundária, sombreada pelo favoritismo da soja, e passa a abrir fronteiras em novos mercados, tanto como produto principal como subprodutos, participando das produções na indústria de alimentos, rações animais, farmacêutica, e até mesmo química.

Da safra de 2007/2008 para a de 2011 foram registrados dados de redução de área cultivada com milho no Brasil. A área total cultivada na safra de 2007/2008 foi de 14,8 milhões de hectares. A expectativa para o ano de 2011 foi de apenas 12,7 milhões de hectares (CONAB, 2011). Já na produtividade, houve um aumento de 3,9 toneladas/ha em 2007/2008 para a expectativa de 4,1 toneladas/ha para esta safra (CONAB, 2011), o que representam valores bastante significativos para o produtor. Esses dados demonstram a atuação do melhoramento genético no ramo produtivo, determinando o crescimento da produtividade, mesmo com a redução da área cultivada.

A planta de milho possui ciclo vegetativo anual, com período de duração bastante variado. Contudo, nas condições brasileiras, a cultura do milho apresenta ciclo variando entre 110 e 180 dias, em função da caracterização dos híbridos (superprecoce, precoce e tardio) quanto ao período compreendido entre a semeadura e a colheita do grão (FANCELLI; DOURADO-NETO, 1996).

No Brasil, a semente híbrida possui significativa importância, já que os agricultores possuem consciência das vantagens do cultivo desse material. A garantia de boa produtividade, uniformidade de produção, porte homogêneo das plantas e resistência à

doenças de determinadas variedades pré-selecionadas, mantêm a comercialização do milho híbrido sempre em crescimento exponencial.

Embora a semente híbrida apresente excelentes vantagens, o seu processo de produção comercial demanda diversos cuidados e técnicas fundamentais a serem utilizadas pelos produtores a fim de não haverem contaminações no momento das polinizações. Um recurso importante e já identificado em diversas espécies, é a utilização das plantas produtoras das sementes (fêmeas) macho-estéreis. Essa técnica permite reduzir os riscos de contaminação na produção das sementes e garante um melhor aproveitamento do tempo de manejo, potencializando os resultados da produção e assegurando a pureza das sementes genéticas.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar dez linhagens de milho, em diferentes locais, quanto a macho-esterilidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A reprodução sexual em milho é um processo que envolve a expressão de genes específicos em células dos tecidos reprodutivos masculino e feminino da planta. Assim, alterações em qualquer fase desse processo podem levar à falta de fertilidade. A macho-esterilidade ocorre quando não há a produção de gametas masculinos viáveis, apesar dos órgãos florais femininos e de as estruturas vegetativas não apresentarem qualquer anomalia (SCHNABLE; WISE, 1998).

O gameta masculino é o grão de pólen. Ele é envolvido por uma cobertura protetora, formada por duas membranas: uma externa (exina) e outra interna (intina). A exina geralmente é cutinizada e apresenta espinhos e desenhos característicos. A exina é interrompida em alguns pontos, formando poros através dos quais ocorre a protrusão do tubo polínico por ocasião da germinação do grão de pólen (POPINIGIS, 1977).

A polinização ocorre quando o grão de pólen entra em contato com o estigma. A seguir, o grão de pólen absorve a secreção exudada pelo estigma e germina, desenvolvendo um tubo polínico, que é o resultado do crescimento da célula vegetativa. O tubo polínico cresce através do estilete, até atingir o óvulo. Através do tubo, desloca-se a célula ou as células generativas no grão de pólen. Quando há apenas uma célula generativa no grão de pólen por ocasião da polinização, esta sofre uma divisão mitótica durante o seu deslocamento através do tubo, formando duas células espermáticas (POPINIGIS, 1977).

A viabilidade do pólen é um dos fatores analisados para determinação da macho-esterilidade da planta. Em milho, existem dois tipos distintos de macho-esterilidade: a nuclear e a citoplasmática. A macho-esterilidade nuclear ocorre quando existem mutações recessivas em genes nucleares que interrompem a gametogênese masculina. Estudos citológicos demonstraram que essas mutações afetam praticamente todos os estágios do desenvolvimento das anteras, variando da pré-meiose até o pólen (CHAUBAL et al., 2003).

Existem três sistemas distintos de macho-esterilidade citoplasmática: Texas ou T (ROGERS; EDWARDSON, 1952); USDA ou S (JONES et al., 1957); e Charrua ou C (BECKETT, 1971). Estas três categorias são definidas pela capacidade de restauração dos genes nucleares na primeira geração (F1) (SCHNABLE; WISE, 1998), sendo que os restauradores Rf são específicos para cada tipo de citoplasma, não promovendo restauração de fertilidade em outros tipos citoplasmáticos.

Alguns genes nucleares denominados restauradores de fertilidade (Rf), podem anular o efeito da macho esterilidade no citoplasma. Assim, se as plantas com macho esterilidade

citoplasmática carregarem o gene Rf nuclear apropriado, elas podem produzir pólen funcionais, mesmo que o citoplasma carregue o gen macho-estéril (LAUGHNAN; GABAY-LAUGHNAN, 1983).

Segundo Levings III (1993), os três tipos de macho-esterilidade citoplasmática do milho, T, C e S, são diferenciadas por genes nucleares específicos, determinados restauradores da fertilidade (Rf), que suprimem o efeito macho-esteril do citoplasma e permitem a produção de pólen viáveis. Por exemplo, dois genes, Rf7 e Rf2, agindo juntos, restauram a fertilidade do pólen macho-estéril tipo T, e não restauram fertilidade dos tipo C ou S.

Para obter o híbrido através de macho-esterilidade, é necessário que o progenitor masculino contenha genes restauradores de fertilidade. A restauração do citoplasma S é dependente do gene restaurador denominado Rf3 e dá-se a nível gametofítico, isto é, a constituição do gameta determina o fenótipo em relação à fertilidade (DUVICK, 1965).

De acordo com Bórem (2001), o ambiente é constituído de todos os fatores que afetam o desenvolvimento das plantas que não são de origem genética. A alteração na performance relativa dos genótipos, em virtude de diferenças de ambiente, denomina-se interação genótipos x ambientes (G x E).

O conhecimento dos aspectos relacionados com a interação genótipo x ambiente permite a definição de genótipos com adaptação ampla ou específica, a escolha de locais de seleção mais apropriados e a determinação do número ideal de ambientes e de genótipos a serem avaliados em cada fase de seleção (FOX et al., 1997).

A não formação de pólen pela planta de milho (macho-estéril), foi descoberta por Rhodes, em 1893, porém só a partir de 1950, tem sido usada extensivamente para a produção de sementes de milho híbrido, eliminando o trabalho de despendoamento das linhas produtoras de sementes. Vários são os tipos de esterilidade masculina conhecidos em milho. Estas esterilidades podem ser controladas por fatores localizados nos cromossomos (cromogenes) e por fatores localizados no citoplasma (plasmagenes) ou pela interação de ambos. O uso de plantas macho-estéreis tem sido uma alternativa visando eliminar o trabalho de despendoamento, diminuindo o custo de produção (MENEZES, 1991).

Foram testados por Magalhães *et al* (1999) diferentes métodos de despendoamento em milho tropical, quantificando possíveis perdas ou ganhos decorrentes do uso dessas técnicas. Avaliou os seguintes tipos de despendoamento: manual, retirada do cartucho, macho-estéril e mecânico. Esses autores concluíram que em um campo de produção de sementes híbridas de milho o despendoamento manual ou o uso da macho-esterilidade são as práticas mais

recomendadas para o controle da polinização e que o uso da retirada do cartucho, que visa assegurar a pureza genética, afeta negativamente a produção de sementes em cerca de 10%.

A macho esterilidade é uma característica que pode ser empregada como valiosa ferramenta para a produção comercial de sementes e já foi identificada em muitas espécies vegetais, sendo um componente estratégico para a produção comercial de híbridos em muitas culturas. Pode ser empregada para evitar que ocorra a autofecundação na linha onde está sendo produzida a semente (linha de fêmeas). Em geral, um genótipo restaurador homozigoto é empregado como o parental masculino do híbrido. A utilização da esterilidade masculina na produção de sementes híbridas apresenta importância econômica, além de assegurar a pureza das sementes genéticas. (BELICUAS; GUIMARÃES, 2009)

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em dois campos experimentais localizados em Centralina-MG (latitude 18° 29` S, longitude 49° 13` W, altitude 465 m) e Cristalina-GO (latitude 16° 15` S, longitude 46° 25` W, altitude 975 m).

O material genético utilizado foram dez linhagens de milho provenientes do programa de melhoramento da Syngenta Seeds LTDA, convertidas para macho esterilidade e codificados em SYN - 1, SYN - 2, SYN - 3, SYN - 4, SYN - 5, SYN - 6, SYN - 7, SYN - 8, SYN - 9 e SYN - 10.

O delineamento experimental utilizado nos dois experimentos foi o de blocos ao acaso, com três repetições, sendo que cada parcela foi composta por duas linhas de 4 metros espaçadas por 0,6 m entre linhas. Nos dois locais a semeadura foi manual com posterior desbaste corrigindo para uma população de 80.000 plantas por hectare, o que corresponde à cerca de 38 plantas por parcela ou 19 plantas por linha.

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa SISVAR (2007). Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância individuais visando detectar a significância dos efeitos de genótipos e do ambiente utilizando-se o teste de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974) a 5% de probabilidade. Para a análise, os valores foram transformados utilizando-se a fórmula _____.

Para interação genótipo x local efetuou-se uma análise de variância conjunta das médias, tendo por objetivo verificar os efeitos de genótipos, locais e da interação entre eles. Nessa análise também foi utilizado o teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade com os valores transformados utilizando-se a fórmula _____.

Foram realizadas avaliações quanto a caracterização da inflorescência masculina durante o período de floração das plantas. Os pendões foram classificados como Estéril quando não apresentaram anteras, Recuperação Parcial da fertilidade (RP) quando tinham poucas anteras com pólen, e de Recuperação Total da fertilidade (RT) quando apresentaram pendões normais segundo a escala ARVALIS, Instituto de Vegetais, Paris (JAROSZ et al., 2003). Os dados obtidos através da avaliação de cada característica foram convertidos para porcentagem (%) de plantas Estéreis, RT ou RP.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As florações das plantas ocorreram em Centralina de 24/05 à 13/06/11 e em Cristalina de 07/06 à 21/06/11.

A temperatura média em Cristalina no intervalo de florescimento da cultura foi de 19,5°C , e em Centralina foi de 21,5°C. As condições de temperatura de cada local podem ser observadas na Figura 1.

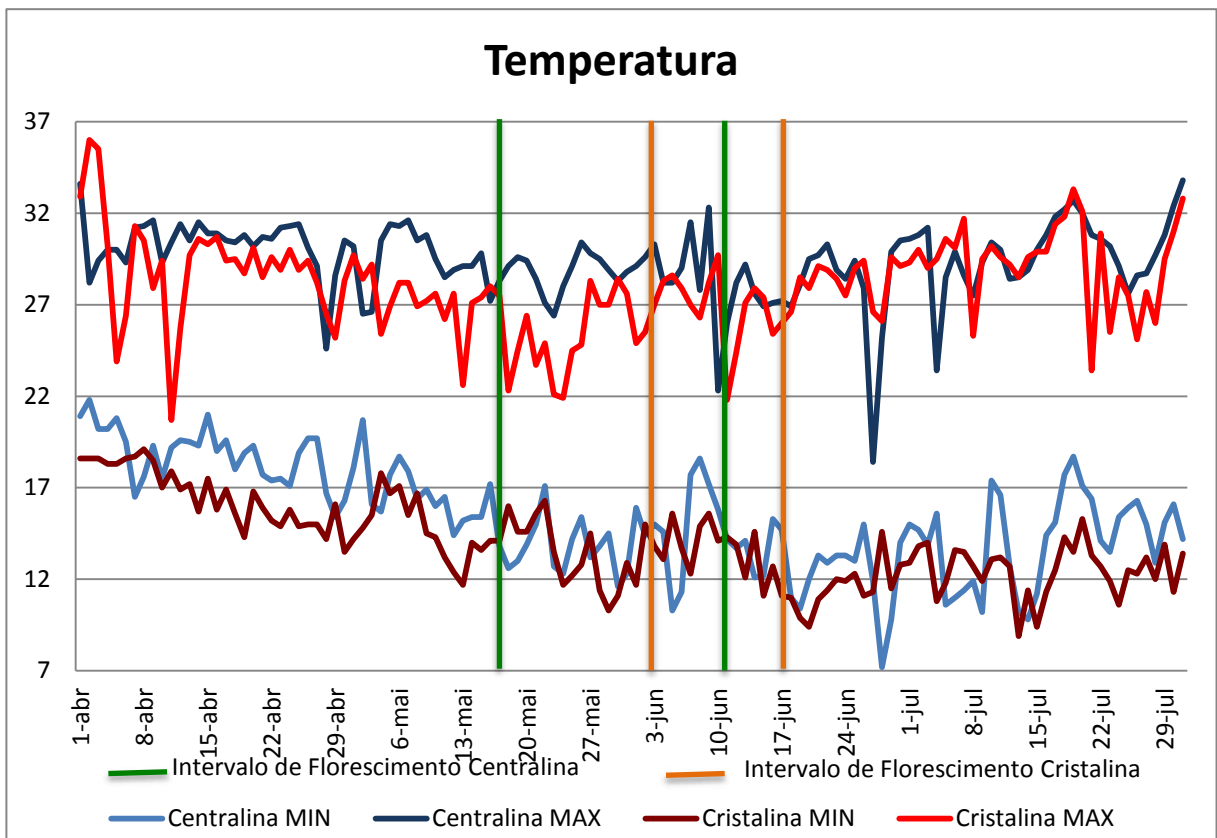


Figura 1 . Temperatura mínima e máxima em Cristalina e Centralina no período de abril à julho, 2011.

Os valores obtidos por meio das análises de variância individuais e conjuntas quanto à classificação em Estéril, Recuperação Total (RT) e Parcial (RP) de dez genótipos nos dois locais estão representados na Tabela 1.

De acordo com as análises realizadas as avaliações das linhagens de Cristalina e de Centralina foram significativas para as características esterilidade, recuperação total e parcial e também para a interação genótipos x locais (Tabela 1). Interações genótipos x locais significativas mostram que as linhagens tiveram comportamento não coincidente em função do local de avaliação.

Tabela 1 . Análises de variância individuais e conjuntas quanto à classificação em Estéril, Recuperação Total e Parcial de dez genótipos, em Centralina e Cristalina, 2011.

FV	GL	Estéril			RT			RP
		Cristalina	Centralina	Conjunta	Cristalina	Centralina	Conjunta	Cristalina
Local	1	-	-	45,37*	-	-	67,96*	-
Genótipo	9	25,96*	25,72*	47,15*	6,87*	43,4*	39,90*	48,9*
GxL	9	-	-	4,52*	-	-	10,42*	-
Erro	18 ¹ /49 ²	3,89	1,81	2,74	0,83	0,8	0,9	1,4
Média	-	40,4	61,6	51	10,7	38,5	24,6	48,9
CV (%)	-	35,6	18,51	25,8	27,3	17,5	23,9	18,7

(¹) Análises individuais

(²) Análise conjunta

(³) Valores transformados utilizando-se a fórmula $\sqrt{(x+0,5)}$.

*: Significativo ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Os experimentos apresentaram coeficientes de variação entre 17,5 a 35,6%. Esses coeficientes conferem boa precisão experimental, especialmente se considerarmos que para todos as características e locais foi possível observar diferenças significativas entre as linhagens avaliadas (Tabela 1 e 2).

Tabela 2. Médias (%) da avaliação quanto a esterilidade, recuperação parcial e total de dez linhagens, em Centralina e Cristalina, 2011.

Linhagens	Estéril			RT			RP
	Cristalina	Centralina	Conjunta	Cristalina	Centralina	Conjunta	Cristalina
SYN-1	19,8 bA	39,8 bA	29,8 c	4,8 cB	60,2 aA	32,5 b	75,4 a
SYN-2	9,1 bB	36,9 bA	23,0 c	11,9 bB	63,2 aA	37,5 b	79,0 a
SYN-3	15,7 bA	26,7 bA	21,2 c	20,7 aB	73,3 aA	47,0 a	63,7 a
SYN-4	74,9 aA	99,6 aA	87,2 a	3,5 cA	0,4 cA	2,0 e	21,7 b
SYN-5	91,3 aA	99,6 aA	95,4 a	1,0 cA	0,4 cA	0,7 e	7,7 c
SYN-6	23,9 bB	89,1 aA	56,5 b	11,1 bA	10,9 bA	11,0 c	65,0 a
SYN-7	6,5 bA	16,7 cA	11,6 c	22,9 aB	83,3 aA	53,1 a	70,7 a
SYN-8	97,9 aA	100 aA	99,0 a	0 cA	0 cA	0,0 e	2,1 c
SYN-9	47,6 aB	96,2 aA	71,9 b	6,6 cA	3,8 cA	5,2 d	45,9 a
SYN-10	17,8 bA	10,9 cA	14,4 c	24,2 aB	89,1 aA	56,6 a	58,0 a
Média	40,4 B	61,5 A	51,0	10,7 B	38,5 A	24,6	48,9

(¹) As letras minúsculas representam a comparação entre linhagens de um mesmo local pelo teste de Scott-Knott (1974), ao nível de 5% de probabilidade. As letras maiúsculas representam a comparação de uma mesma linhagem entre os dois locais para determinada característica.

Considerando os resultados obtidos para as análises conjuntas, podemos inferir que houve efeito significativo para locais, mostrando diferenças nas médias das linhagens em relação aos locais avaliados.

Em Cristalina foram observados maiores valores médios para Esterilidade e RT em relação à Centralina (Tabela 2). Outro fato importante é que em Centralina não foi observada RP da inflorescência masculina, provavelmente devido a ocorrência de temperaturas mínima e máxima mais altas (Figura 1). Provavelmente, as condições de temperatura mais elevada

ocorridas em Centralina, influenciaram os resultados de médias superiores quanto à manutenção da esterilidade das linhagens obtidas para o local. O mesmo foi observado por Duvick (1965), estudando que o fotoperíodo longo com altas temperaturas reduzem a fertilidade das plantas de milho. Maiores umidades e menores temperaturas foram associados pelo mesmo autor com aumento de fertilidade no milho, o que foi observado em Cristalina, a qual obteve médias de recuperação total e parcial da fertilidade maiores do que Centralina, provavelmente por apresentar condições de temperatura inferiores a Centralina.

De acordo com a Figura 1, a média das temperaturas de Cristalina foi inferior à 20°C, ocasionando a obtenção de médias de recuperação total e parcial da fertilidade maiores das de Centralina, onde a temperatura média foi 21,5°C. Na avaliação de genótipos na Argentina, Pascale (1953) observou que o florescimento e a maturação do milho ocorrem mais rapidamente quando as temperaturas médias do ar situaram-se ao redor de 25°C, havendo um retardamento à medida que se diminui essa temperatura.

As linhagens que se destacaram quanto à esterilidade (Estéril), em Cristalina, foram a SYN-4, SYN-5, SYN-8 e o SYN-9, que não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott (Scott e Knott, 1974), porém diferindo-se das demais ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 1). Já para Centralina, além dessas linhagens, a SYN - 6 também se destacou em relação às demais, não diferindo estatisticamente quanto a esterilidade, porém diferindo-se em relação às demais características.

Considerando a análise conjunta entre os dois locais, os genótipos SYN-4, SYN-5 e SYN-8 se sobressaíram em relação aos demais nos dois locais, apesar da interação genótipos x locais ter sido significativa para Esterilidade. Esses resultados indicaram a estabilidade para a esterilidade.

Quanto a recuperação total da fertilidade (RT), em Cristalina os genótipos SYN-1, SYN-4, SYN-5, SYN-8 e SYN-9 destacaram-se em relação aos demais, por apresentarem as menores taxas de recuperação da fertilidade, não diferindo estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott (1974). Para Centralina, esses mesmos genótipos se destacaram, com exceção do SYN-1 que apresentou alta taxa de restauração da fertilidade, não diferindo em relação aos genótipos SYN-2, SYN-3, SYN-7 e SYN-10.

Considerando a análise conjunta para a característica RT os genótipos SYN-4, SYN-5 e SYN-8 destacaram-se por apresentar as menores taxas de recuperação da fertilidade. Apesar da interação genótipos x locais significativa, esses genótipos se sobressaíram nos dois locais e na média dos locais, mostrando certa estabilidade para esta característica.

Em Cristalina foi observado que alguns genótipos apresentaram recuperação parcial para a produção de pólen. Nesse local, os genótipos SYN-5 e SYN-8 apresentaram as menores taxas de recuperação. Por outro lado, para Centralina não foi observada recuperação parcial, provavelmente em função das condições de temperatura e umidade do ar permitirem a manifestação dos extremos.

Considerando os resultados discutidos, podemos inferir que os genótipos SYN-5 e SYN-8 destacaram-se em relação aos demais por apresentarem alta esterilidade, associada com reduzida recuperação total e parcial. Esses genótipos mantiveram a macho-esterilidade nas plantas avaliadas mesmo considerando os dois ambientes avaliados.

Pelas características avaliadas, esses genótipos podem ser considerados como fontes da macho esterilidade para o programa de melhoramento e/ou em campos de produção de híbrido. A macho-esterilidade é uma alternativa viável para facilitar a implementação de técnicas como a seleção recorrente em programas de melhoramento de plantas autógamas (CANCI et. al., 1997) e produção de semente híbrida (BELICUAS; GUIMARÃES, 2009).

5 CONCLUSÕES

As linhagens SYN-5 e SYN-8 destacaram-se em relação à manutenção da macho-esterilidade.

Altas temperaturas favorecem a manutenção da esterilidade nas linhagens de milho.

REFERÊNCIAS

- BECKETT, J. B. Classification of male-sterile cytoplasm in maize (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 11, p. 724-727, 1971.
- BELICUAS, S.N.J.; GUIMARÃES, L.J.M. **Avaliação molecular da macho esterilidade citoplasmática em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 5-8, 2009.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**, 3.ed., Viçosa :UFV, 2001, 500p.
- CHAUBAL, R.; ANDERSON, J. R.; TRIMNELL, M. R.; FOX, T. W.; ALBERTSEN, M. C.; BEDINGER, P. The transformation of anthers in the msca1 mutant of maize. **Planta**, New York, v. 216, p. 778-788, 2003.
- CONAB, **Série Histórica**, 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 07/09/2011.
- CANCI, P.C.; BARBOSA NETO, J.F.; CARVALHO, F.I.F. Implementação da seleção recorrente no melhoramento de plantas autógamas através da macho-esterilidade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27 n.3, p.502-512, 1997.
- DUVICK, D.N. Cytoplasmic pollen sterility in corn. **Advances in Genetics**, New York, v.13, p.1-56, 1965.
- FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Milho**: fatores determinantes da produtividade. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, p. 1- 6, 2007.
- FERREIRA, C. A.; VON PINHO, E. V. R.; ALVIN, P. O.; ANDRADE, V.; SILVA, T. T. A.; CARDOSO, D. L. Conservação e determinação da viabilidade de grãos de pólen de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.2, p.159-173, 2007.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.1. Lavras: DEX/ UFLA, 2007. (Software estatístico).
- FOX, P.N.; CROSSA, j.; ROMAGOSA, I. Multi-environment testing and genotype x environment interaction. In: KEMPTON, R.A.; FOX, P.N (Ed.). **Statistical methods for plant variety evaluation**. New York: Chapman and Hall, 1997, p.117-138.
- JAROSZ, N.; LOUBERT, B.; DURAND, B.; MCCARTNEY, A.; FOUPELLASSAR, X.; HUBER, L. Field measurements of airborne concentration and deposition of maize pollen. **Agricultural and Forest Meteorology**, Grignon, v.119 : p.37-51, 2003.
- JONES, D. F.; STINSON, H. T. J.; KHOO, U. **Pollen restoring genes**. New Haven: Connecticut Agricultural Experiment Station, p. 8-12, 1957. (Bulletin, 610).
- LAUGHNAN, J.R.; GABAY-LAUGHNAN, S. Cytoplasmic male sterility in maize. **Annual Reviews of Genetics**, Palo Alto, v.17, p. 17-27, 1983.
- LEVINGS III, C.S. American Society of Plant Physiologists Thoughts on Cytoplasmic Male Sterility in *cms-T*. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, p.1285-1290. 1993.

MAGALHÃES, P.C., Efeitos de diferentes técnicas de despendoamento na produção de milho. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, p. 77 – 82, 1999.

MENEZES, N.L. **Efeitos da antecipação de despendoamento sobre a área foliar, produção e qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1991. 91 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de agricultura ‘Luiz de Queiroz’. Piracicaba, 1991.

PASCALE, A.J. Mapa fenológico do milho en la República Argentina. **Meteoros**, Buenos Aires, v.3, n.4, p.383-394, 1953.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977, 289p.

ROGERS, J. S.; EDWARDSON, J. R. The utilization of cytoplasmic male- sterile inbreds in the production of corn hybrids. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 8-13, 1952.

SCHNABLE, P. S.; WISE, R. P. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. **Trends Plant Science**, Ames, v. 3, p. 175-180, 1998.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, DC, v.30, n.3, p.507-512, 1974.