



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI  
PRÓ – REITORIA DE ENSINO  
INTERDISCIPLINAR DE BIOSISTEMAS

**ANA CAROLINA APARECIDA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES EM  
INDUTORES DE HAPLOIDIA**

**Sete Lagoas  
2017**

**ANA CAROLINA APARECIDA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES EM  
INDUTORES DE HAPLOIDIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João Del Rei como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biosistemas.

**Área de concentração:** Produção e tecnologia de sementes

**Orientadora:** Nádia Nardely Lacerda Durães Parrella

**Co – orientador:** Roberto dos Santos Trindade.

**Sete Lagoas  
2017**

**AVALIAÇÃO DE QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES EM  
INDUTORES DE HAPLOIDIA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Engenharia  
Agrônoma da Universidade Federal de  
São João Del Rei como requisito parcial  
para obtenção do título de Bacharel em  
Engenharia de Biosistemas.

Sete Lagoas, 2017

Banca examinadora:

---

Dr. Roberto Trindade dos Santos – Engenheiro Agrônomo (Embrapa – Milho e Sorgo)

---

Dra. Déa Alecia Martins Netto – Engenheira Florestal (Embrapa – Milho e Sorgo)

---

Dra. Nádia Nardely Lacerda Durães Parrella – Engenheira Agrônoma (UFSJ)  
Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado forças para chegar até aqui e concluir esta etapa, e também por colocar pessoas iluminadas em meu caminho.

Aos meus pais, Jose Maria e Dirlene, que estiveram sempre presentes me apoiando e me dando suporte para que eu realizasse meus sonhos.

À Universidade Federal de São Joao Del Rei que me deu oportunidades e vangloriou minha vida acadêmica, por ter me recebido durante o curso e ter me proporcionado um ensino de qualidade convivendo diariamente com pessoas dedicadas.

Um agradecimento especial para ao Núcleo de Recursos Genéticos e Desenvolvimento de Cultivares (NRGC) e o Laboratório de Sementes (LAS) da empresa Embrapa Milho e Sorgo que me recebeu durante minha graduação e proporcionou meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Dr. Roberto Trindade que instruiu toda a pesquisa, sendo sempre disponível e impecável em suas recomendações. Sou hoje uma profissional na área das Ciências Agrarias graças a ele, serei sempre grata pela sua ajuda e orientação.

À Dra. Déa Netto por ter cedido o Laboratório de Análise de Sementes, por ter me acolhido e aceitando a proposta de ser minha co-orientadora.

À Dra. Nádia Nardely que aceitou tão prontamente a ser minha orientadora, e excelente professora, no qual fez instigar em mim a vocação pela profissão. Obrigada pelos ensinamentos.

À minha família e amigos, minha colega de estágio Bruna Lopes, aos técnicos do Galpão de Melhoramento de Milho, Fábio e Eduardo e todos os funcionários que me receberam na empresa e sempre estiveram ao meu lado. Aos pesquisadores Lauro Guimarães e Paulo Evaristo que foram grandes exemplos de profissionais e incentivadores.

À todos, obrigada.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a qualidade fisiológica de sementes de milho de genótipos indutores de haploidia. Para tanto, nove indutores de haploidia foram avaliados no Laboratório de Análises de Sementes da Embrapa Milho e Sorgo quanto a qualidade fisiológica, determinada com base em parâmetros como testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em canteiro, umidade e peso de mil sementes. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com comparação de médias pelo teste de Scott Knott e por contrastes ortogonais. Os resultados obtidos mostraram que as diferenças entre os genótipos quanto a qualidade fisiológica de sementes estão restritas ao potencial para germinação e ao vigor da semente. Conclui-se que existe diferença na qualidade fisiológica de sementes de indutores de haploidia em função do tipo de indutor e de seu grau de adaptabilidade ao ambiente tropical.

**Palavras chave:** Linhagens duplo-haplóides, conservação de sementes, *Zea mays* L.

## **ABSTRACT**

The objective of this work was to verify the physiological quality of seeds inducing corn haploidic. Nine haploid inducers were used from Embrapa Corn and Sorgo maize breeding program and the analyzes were performed at the Seed Analysis Laboratory of this institution. Tests of germination, accelerated aging, emergency in bed, humidity and weight of a thousand seeds were carried out. The methodology followed a completely randomized design, which had the averages compared by the Scott Knott test, in addition to orthogonal contrasts. The results show that inductive seeds present physiological quality as well as conventional corn seeds. It was possible to notice that the differences between the genotypes regarding the physiological quality of seeds is restricted to the potential for germination and seed vigor. It was concluded that there is a difference in the physiological quality of seeds of haploid inducers as a function of the type of inductor and its degree of adaptability to the tropical environment.

**Keywords:** Haploidy, inducers, *Zea mays* L.

## SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	8
2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1- Melhoramento genético na cultura do Milho.....	10
2.2- Desenvolvimento de linhagens em programas de melhoramento de milho.....	12
2.3- A tecnologia de linhagens duplo-haploides.....	13
2.4 - Tipos de sistemas de indução de haploidia.....	14
2.5- Metodologias para avaliação da qualidade fisiológica de sementes.....	15
3-MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 – Local e data do experimento e genótipos avaliados.....	17
3.2 – Avaliação da qualidade fisiológica de sementes.....	17
3.3 – Análises estatísticas.....	20
4– RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5 – CONCLUSÃO.....	28
6- REFERÊNCIAS BIBLIGRÁFICAS.....	29

## 1-INTRODUÇÃO

O milho, *Zea mays*, é uma planta alógama e pertence à família *Poaceae*. É uma cultura de grande importância econômica, devido a seu uso como alimento, forragem ou na agroindústria. Uma das maiores características da cultura do milho é a adaptabilidade a diferentes ambientes, devido à sua variabilidade genética.

Em programas de melhoramento de milho, uma nova estratégia que vem ganhando espaço para obtenção de linhagens endogâmicas é a tecnologia de linhagens duplo-haploides (DH). Esta técnica se baseia na geração de plantas haploides de milho, com o número básico de cromossomos conhecidos para espécie ( $n=10$ ). As plantas haploides possuem vigor extremamente reduzido, e apresentam dificuldades para reprodução devido à impossibilidade de meiose normal nas células reprodutivas. Por meio do tratamento das plântulas haploides com inibidores de mitose, que impedem a divisão celular mas permitem a duplicação dos cromossomos, restaura-se a fertilidade das plantas, as quais podem ser autofecundadas e passam a ser chamadas de linhagens duplo-haploides, uma vez que para cada cromossomo que a planta haploide possuía anteriormente, passa-se a ter uma cópia exata, o que lhe confere completa homozigose e o mesmo número de cromossomos de uma planta diploide (Prigge & Melchinger, 2011). Essa tecnologia permite obtenção de linhagens em até três gerações, reduzindo o tempo e os custos para a obtenção de linhagens de milho.

Todos os genótipos atualmente utilizados como indutores de haploidia são derivados das linhagens Stock 6, que induz a formação de haplóides gimnogenéticos a uma taxa de 3% de frequência, e W23, que gera haplóides androgenéticos com frequência entre 1 a 3% (Coe 1959; Kermicle, 1969; Belicuas et al, 2007; Silva et al, 2009). Esses progenitores foram desenvolvidos em locais de clima temperado, e a maioria dos indutores de haploidia em milho foram desenvolvidos nessas mesmas condições, tendo difícil adaptação em ambientes tropicais. Este fato tem incentivado programas de melhoramento a adaptar indutores de haploidia via retrocruzamento com genótipos tropicais (Trindade et al., 2015). Nesse contexto, tendo em vista a presença de germoplasma temperado na base genética dos indutores de haploidia ora em uso, torna-se importante avaliar a qualidade da semente desses materiais, sobretudo para avaliação de seu desempenho agrônomo em condições tropicais.



A produção de sementes de qualidade fisiológica e sanitária adequadas são essenciais em programas de melhoramento e para a produção vegetal como um todo, visto que estas são responsáveis pelo estabelecimento inicial da cultura e contribuem significativamente na manutenção de um bom estande final, resultando em produtividades satisfatórias (BORÉM e MIRANDA, 2009).

As sementes podem ser avaliadas sob aspectos fisiológicos e por sua capacidade de desempenhar funções vitais. As principais características desejáveis em sementes são a longevidade, poder germinativo e vigor (AZEVEDO, 2008). A qualidade se dá pelo conjunto de todos os atributos genéticos, fisiológicos, físicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade.

Considerando a origem temperada dos indutores de haploidia disponíveis para uso na atualidade, pode-se supor a hipótese de que existe diferença na qualidade fisiológica de sementes de indutores de haploidia em função das características genéticas, do tipo de indutor e de sua adaptabilidade ao ambiente tropical. Tendo em vista a escassez de informações sobre o potencial germinativo em indutores de haploidia, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade fisiológica em sementes de indutores de haploidia de diferentes tipos e origens.

## **2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1- Melhoramento genético na cultura do Milho**

A agricultura é uma atividade vital para a sociedade. Cerca de 40% das exportações do Brasil dependem do agronegócio. Dos cerca de US\$ 60 bilhões exportados em 2002 (RECEITA FEDERAL, 2002), US\$ 25 bilhões são oriundos do agronegócio (MAPA, 2003). Outras contribuições da agricultura são a maior oferta de alimento, com conseqüente redução de preços ao consumidor, e a melhora da condição nutricional da população. No contexto da produção agrícola, é indiscutível a contribuição do melhoramento genético vegetal para os aumentos de produtividade observados na agricultura brasileira ao longo das últimas décadas.

O melhoramento de plantas engloba todas as técnicas, métodos, estratégias ou recursos utilizados para que algum progresso seja incorporado a uma espécie vegetal. De modo geral, este progresso está relacionado com a melhora do conteúdo genético da espécie trabalhada, em estreita relação com ambiente onde esta espécie será cultivada (BORÉM, 1997).

O melhorista trabalha com o objetivo de lançar cultivares superiores para serem utilizadas pelos agricultores. Assim, a escolha dos genitores para melhoramento se dá conforme os componentes físicos, químicos, biológicos, econômicos e sociais ligados a cultura de interesse que o melhorista distingue, visto que é dada maior atenção aos aspectos quantitativos da população, em conjunto com as condições dos ambientes de cultivo. O método tradicional de melhoramento baseia-se nos conceitos de herança mendeliana dos caracteres, ou seja, que as características a serem melhoradas são herdadas dos genitores pelas progênies. O melhoramento propicia aumento na produtividade, resistência à adversidades ambientais (solos, clima, pragas, doenças, etc.), adequação à exigências do mercado consumidor e aumento na renda (BORÉM, 1997).

O milho é originário da região do México e dos Andes, mas é cultivado em todo o mundo nos dias atuais. Praticamente todas as principais espécies cultivadas no Brasil são exóticas (originárias de outras regiões). O melhoramento de milho propicia a obtenção de linhagens, sementes híbridas e variedades comerciais de milho, cada um destes com suas vantagens e desvantagens. As sementes a serem comercializadas devem ter suas características dentro dos padrões para produção e comercialização, nos quais é

exigido que a germinação deve ser no mínimo 75% para sementes híbridas e variedades (Instrução Normativa n° 45, 2013).

As linhagens são grupos de indivíduos obtidos por sucessivas autofecundações visando obter uma linhagem “pura” ou homozigótica (BORÉM, 2005). O testador pode ser considerado uma linhagem cuja escolha é feita de acordo com as suas características genóticas expressadas com nitidez, e é utilizado para teste da capacidade combinatória de outras linhagens. As linhagens altamente produtivas são consideradas testadores ruins, visto que tendem a mascarar o potencial genético dos genótipos em avaliação. (BOREM e MIRANDA, 2009).

As variedades são recomendáveis para cultivos de baixa tecnologia. São genótipos provenientes do cruzamento natural entre uma série de linhagens, híbridos ou mesmo variedades distintas, mas que combinem bem entre si. São plantas mais rústicas, que apresentam grande variabilidade genética, e por isso toleram condições menos favoráveis ao seu crescimento. Porém, geram lavouras mais heterogêneas, o que dificulta a mecanização e a aplicação de novas tecnologias (PARENTONI e MAGNAVACA, 1990). Alguns produtores preferem trabalhar com este tipo de semente, pois podem utilizar parte da colheita para garantir o próximo plantio, além de serem mais resistentes a estresses abióticos e ao ataque de pragas e doenças devido sua maior variabilidade genética (PARENTONI e MAGNAVACA, 1990).

Com o avanço da produção e tecnificação do mercado de produção de sementes o custo de híbridos diminuiu drasticamente, aumentando significativamente a presença de híbridos no mercado produtor. Segundo Borém e Miranda (2013), 40,6% dos híbridos de milho comercializados no Brasil são simples, obtidos pelo cruzamento entre duas linhagens endogâmicas e complementares. Porém, o mercado apresenta também híbridos triplos (cruzamento entre uma linhagem e um híbrido simples) e duplos (cruzamento entre dois híbridos simples) (CORREA et al. 2010). A seleção de híbridos superiores é realizada de tal forma que quanto maior o número de genótipos avaliados, maior a chance de selecionar materiais competitivos comercialmente (CORREA et al. 2010).

O processo de obtenção de híbridos de milho envolve a obtenção de linhagens endogâmicas, pela autofecundação em sucessivas gerações. O processo em campo é feito pelos cruzamentos controlados em grande escala, nestes há elevada heterose quando relacionada à produção. As técnicas de despendoamento e isolamento favorecem a produção de sementes híbridas (BORÉM, 2005), porém estas técnicas, realizadas

somente em escala comercial e relacionadas à pesquisa, são inviáveis para o produtor sendo assim necessária a compra de sementes a cada novo plantio.

## **2.2- Desenvolvimento de linhagens em programas de melhoramento de milho**

Um dos principais objetivos de melhoristas é o aumento de produtividade das culturas, e uma das estratégias nesse sentido é o aproveitamento do vigor híbrido, obtido pelo cruzamento entre linhagens endogâmicas. Nesse contexto, a obtenção de linhagens em programas de melhoramento de milho é uma etapa essencial.

O processo tradicional de produção de híbridos de milho envolve a geração de linhagens endogâmicas, por meio de autofecundações sucessivas, sendo estas cruzadas entre si posteriormente para a obtenção de híbridos. Entretanto o custo e o tempo de gerações que são necessários para obtenção das linhagens, fazem com que os melhoristas procurem alternativas que reduzam o tempo nesse processo. Uma delas é o emprego da tecnologia de duplo-haploides.

As linhagens duplo-haploides podem ser provenientes de procedimentos *in vitro* ou *in vivo*. Atualmente, na cultura do milho, o método *in vivo* é o mais utilizado para obtenção de linhagens DH. A obtenção de haploides na cultura do milho se dá por cruzamento de um híbrido de interesse com um indutor de haploidia, seguido da seleção de sementes haploides e da duplicação dos cromossomos das plantas selecionadas, restaurando-se a fertilidade das mesmas, o que resulta em indivíduos homozigotos.

A tecnologia de duplo-haploides permite reduzir o tempo e custo de obtenção de linhagens, melhorando, assim, a eficiência na produção de híbridos. O processo tradicional de obtenção de linhagens consiste em autofecundações manuais, se alongando em torno de seis a oito gerações de autofecundações, sendo que, ao final desse processo, ainda persistem loci em heterozigose. Já no caso da tecnologia DH, a obtenção de linhagens homozigotas ocorre em cerca de duas gerações. Dentre as características vantajosas proporcionadas pelos duplo-haploides pode-se citar a máxima variação genética, a completa homozigose e a redução do tempo e custo envolvidos na obtenção das linhagens (GEIGER e GORDILLO, 2009).

### 2.3- A tecnologia de linhagens duplo-haploides

A tecnologia de linhagens duplo-haploides (DHs) em milho se baseia na obtenção de plantas haplóides, que passam por um processo artificial de duplicação cromossômica. As noções básicas sobre indução de haploidia *in vivo* foram estabelecidas quando Coe (1952) descreveu uma linhagem de milho com frequência de indução de haploides de 2,3%, denominada Stock 6. Este material genético serviu de base para a obtenção de uma série de indutores com taxas de indução superiores a este material. A linhagem indutora Stock6 gera haploides de origem materna ou gimnogenéticos. A linhagem Wisconsin 23 (W23), gera haploides androgenéticos. A taxa de indução é relativamente menor, variando de 1 a 3% (Kermicle, 1969, 1973).

A indução *in vivo* tem sido preferida em relação aos outros métodos e baseia-se na utilização de linhagens indutoras (Prassanna et al., 2012). As linhagens podem gerar haploides androgenéticos ou gimnogenéticos. No caso dos androgenéticos, após a fertilização, um dos núcleos reprodutivos do grão de pólen se desenvolve em um “pseudo-embrião”, ao passo que, no sistema gimnogenético, é a oosfera que se desenvolve.

Acredita-se que os haploides resultem de uma falha na fertilização, devido ao gameta masculino ou feminino. Não ocorrendo a fertilização, por um mecanismo também não elucidado, a oosfera cresce e se diferencia em um “embrião” (Sarkar & Coe, 1966). No caso do sistema gimnogenético, a linhagem indutora é utilizada como genitor masculino (doadora de pólen). Assim, o haploide resultante é de origem materna.

A “semente” haploide se desenvolve a partir do núcleo reprodutivo do grão de pólen. O controle genético do sistema androgenético tem sido estudado. Um gene (*ig*), denominado gametófito indeterminado, é responsável pelo caráter. O alelo recessivo desse gene induz a produção de haploides a partir do gameta masculino (Kermicle, 1969). Esse alelo está localizado no braço longo do cromossomo três, a 90 cM do loco envolvido na produção de lígula (*lg2*), o mais distal do braço curto (Kermicle & Demopoulos-Rodrigues, 1980).

Enquanto que, em uma megasporogênese normal, ocorrem três mitoses sucessivas, resultando em um saco embrionário com oito núcleos, sob a ação do alelo *ig recessivo*, algumas megasporogêneses sofrem quatro ou mais mitoses, resultando em um saco embrionário com 16 núcleos ou mais (Lin, 1981). Como resultado dessas divisões mitóticas adicionais, o indivíduo que apresenta o alelo *ig recessivo* exhibe

heterofertilização, poliembrionia e variação no nível de ploidia do endosperma, depois da fertilização. De acordo com Lin (1981), os sacos embrionários com oosferas degeneradas provavelmente favorecem o desenvolvimento de um núcleo reprodutivo de grão de pólen sem a ocorrência de fertilização, dando origem a um embrião androgenético haploide.

Para viabilizar a obtenção de linhagens de milho DHs como metodologia que identificam linhagens de milho com potencial para indução de haploidia, e realizaram nessas linhagens a introgressão de um marcador fenotípico denominado *R1-navajo*. Este marcador codifica a biossíntese de antocianina em sementes, resultando em grãos com coloração púrpura, possibilitando a identificação de haploides com facilidade (PRASSANA et al., 2012).

A indução *in vivo* tem sido preferida em relação aos outros métodos e baseia-se na utilização de linhagens indutoras. Tais linhagens podem gerar haploides androgenéticos ou gimnogenéticos. No caso dos androgenéticos, após a fertilização, um dos núcleos reprodutivos do grão de pólen se desenvolve em um “pseudo-embrião”, ao passo que, no sistema gimnogenético, é a oosfera que se desenvolve.

A tecnologia de DH em milho possui grandes vantagens, como permitir uma maior precisão na seleção, reduzir o tempo e economizar recursos para obtenção de novas linhagens, o que tem levado esta tecnologia a ser adotada mundialmente por vários programas de melhoramento de milho. Com a utilização desta tecnologia é possível garantir a pureza genética das linhagens desenvolvidas e proporcionar um ganho significativo em tempo e na qualidade das avaliações dos híbridos. Porém, existem vários fatores que podem dificultar a implantação do processo de duplo-haploides em um programa de melhoramento, como a falta de conhecimento para o uso da tecnologia, a falta de acesso a indutores de haploidia com boa taxa de indução e a adaptação efetiva dos indutores e das linhagens DH ao ambiente de cultivo.

#### **2.4 - Tipos de sistemas de indução de haploidia**

A indução de haploides paternos ou androgenéticos, baseia-se na ação do gene mutante recessivo *ig* (*indeterminate gametophyte*), o qual codifica anomalias embriológicas, como oosferas sem núcleo, que após fusão com o núcleo reprodutivo do grão de pólen, resultam em embrião haploide com citoplasma da planta mãe e genes do genitor masculino (BABU, 2012).

Na indução de haploides maternos (gimnogênese), o indutor é utilizado como genitor masculino. Neste sistema, quando o núcleo reprodutivo do grão de pólen do indutor gimnogenético entra em contato com a oosfera do genótipo-fonte, no interior do saco embrionário, há a indução da divisão mitótica da oosfera em um embrião haploide, portando genes oriundos apenas do genitor feminino (BABU et al, 2012).

O processo de indução por gimnogênese apresenta a vantagem de resultar em uma maior taxa de indução de haploides e maior praticidade de uso quando comparado a androgênese, uma vez que os genótipos-fonte são utilizados como genitores femininos. Desta forma, a polinização para indução de haploidia pode ser realizada em lotes isolados, com despendoamento das populações-fonte, mantendo no campo apenas o pólen oriundo do indutor materno.

Bylich e Chalyk (1996) apontam para indícios de que, para a formação de haploides gimnogenéticos, dois núcleos espermáticos são desenvolvidos com diferentes velocidades, sendo que somente um dos núcleos espermáticos atinge o estágio ideal para a fertilização. Dessa forma, a existência de apenas um núcleo espermático viável e um núcleo espermático defeituoso no grão de pólen explicaria a quebra da dupla fertilização e o desenvolvimento de sementes com embriões haploides.

Todas as linhagens utilizadas atualmente como indutores de haploidia em milho são derivadas ou da linhagem Stock 6, que induz a formação de haploides gimnogenéticos com 3% de frequência, ou da linhagem W23, que gera haploides androgenéticos com frequência entre 1 a 3% (Prassana et al.; 2012). Ambas as linhagens foram obtidas em ambientes de clima temperado, tendo baixa adaptação ao clima tropical. Novos indutores gimnogenéticos têm obtido taxas de até 20% na indução de sementes haploides (Rotarenco et al., 2010; Kebede et al., 2011; Prigge et al., 2011).

A tecnologia DH em milho tropical está atrasada em relação ao clima temperado, devido à escassez de indutores adaptados ao clima dos trópicos, e pela falta de informações confiáveis sobre o desempenho de indutores temperados nas condições tropicais (PRIGGE et al., 2011).

## **2.5- Metodologias para avaliação da qualidade fisiológica de sementes**

As sementes podem ser avaliadas sob aspectos fisiológicos e por sua capacidade de desempenhar funções vitais, sendo caracterizada pela longevidade, pelo poder germinativo e vigor (AZEVEDO, 2008). Para obter maiores características sobre os

genótipos e agregar informações aos bancos de sementes, este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a qualidade fisiológica de sementes indutoras de haploidia.

A qualidade se dá pelo conjunto de todos os atributos genéticos, fisiológicos, físicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade, verificadas por análises feitas em laboratório padronizadas por metodologias descritas nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009), que especificam os diferentes métodos de análises a serem realizados, bem como quantidades e pesos mínimos de amostras. Esse documento apresenta ainda instruções para o teste de pureza, germinação, umidade, tetrazólio e outros testes (BRASIL, 2009).

A pesquisa na área de análise de sementes está em contínuo avanço para possibilitar a introdução de novas técnicas que envolvam estudos na área de fisiologia, bioquímica, biologia molecular e biofísicas para obtenção de sementes de alta qualidade (Marcos, 2005).

Trabalhos que comparem a qualidade fisiológica de sementes em genótipos de milho com potencial para indução de haploidia são escassos na literatura. Alguns trabalhos, como o de Belícuas (2004) avaliam a obtenção, identificação e caracterização de haploides androgenéticos em milho. Rabel (2008), demonstra em sua pesquisa procedimentos para obtenção e o desempenho de haploides androgénicos tropicalizados.

Sendo assim, são necessários estudos que avaliem a qualidade fisiológica de sementes indutoras de haploidia de milho, visando determinar parâmetros para sua conservação e manejo em programas de melhoramento.



### 3-MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 – Local e data do experimento e genótipos avaliados

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Milho e Sorgo, entre dezembro de 2015 e fevereiro de 2016.

Foram avaliados nove indutores de haploidia, a saber: os indutores gimnogenéticos Stock 6, Tail P1, Tail P2, Tail P2 x Tail P1, Tail P1 x Tail P2, e os indutores androgenéticos W 23, 90109 igig, 91202 igig e 91207 igig. As linhagens Stock 6 (indutor gimnogenético) e W23 (indutor androgenético) são linhagens indutoras adaptadas ao clima temperado, das quais se derivaram todos os indutores atualmente em uso, com diferencial apenas para o sistema de indução. Tail 1 e Tail 2 são linhagens indutoras de haploidia por gimnogênese que foram tropicalizadas por meio do cruzamento dos indutores UH400 e RWS com linhagens tropicais de milho. Esse trabalho foi realizado por pesquisadores do Centro Internacional para Melhoramento do Milho e Trigo (CIMMYT), no México, e visou desenvolver indutores de haploidia adaptados as condições tropicais, com características agrônômicas desejáveis e taxas de indução mais elevadas (Prasanna et al., 2012). O termo Tail é sigla de *tropically adapted inducer lines*. Os híbridos Tail 1 x Tail 2, e Tail P2 x Tail P1 são derivados do cruzamento entre as duas linhagens anteriormente descritas, se invertendo apenas a linhagem que é utilizada como genitor feminino. Os indutores androgenéticos 90109, 91202 e 91207 são genótipos oriundos trabalho de obtenção de indutores adaptados ao clima tropical por meio do cruzamento entre a linhagem W23 com genótipos tropicais (Rabel, 2008; Rabel et al., 2008).

#### 3.2 – Avaliação da qualidade fisiológica de sementes

A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por meio dos seguintes testes:

- **Germinação:** realizado com quatro repetições de 50 sementes colocadas em rolo de papel tipo Germitest. As folhas de papel foram previamente umedecidas com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Após a semeadura os rolos de papel foram colocados em germinador sob temperatura de 25°C. Foi feita leitura única aos seis dias

após sementeira Avaliou-se após a implantação do teste, percentagem de plântulas normais e a percentagem de sementes doentes, conforme descrição contida nas Regras para Análise de Sementes (Brasil,1992). ( Figuras 1 e 2).



Figura 1- Montagem do teste de germinação. Fonte: Silva, A. C. A.



Figura 2: Disposição dos rolos de papel no germinador. Fonte: Silva, A. C. A.

- **Determinação do grau de umidade por métodos de estufa:** foram utilizadas duas repetições de 25 sementes, que foram pesadas em balança com precisão de 0,001g. Em seguida, as sementes foram submetidas a uma temperatura de 105°C em estufa de ventilação forçada por 24 horas. Passado esse período, os recipientes foram colocados em dessecador por 30 minutos, sendo pesadas novamente em balança de precisão. O grau de umidade nas sementes foi determinado pela diferença entre as pesagens.
- **Peso de mil sementes:** utilizaram-se oito repetições de 100 sementes (Brasil, 1992), em que as sementes foram colocadas em um cadinho metálico, o qual era pesado anteriormente em balança de precisão com três casas decimais, para aferição do peso. Em seguida, as amostras eram pesadas, sendo determinado o peso da amostra por diferença entre o peso do recipiente e peso da amostra contida no mesmo.

- **Envelhecimento acelerado:** esse teste foi realizado em caixa gerbox, contendo 40 mL de solução saturada de NaCl. As sementes foram dispostas em uma tela de alumínio fixada no gerbox fechada, e submetidas à temperatura de 42°C em BOD por 96 horas. Após este período foi realizada a montagem de um teste de germinação com quatro repetições de 20 sementes em rolo de papel, se efetuando a contagem de plântulas normais aos quatro dias de plantio.
- **Porcentagem de Emergência:** para esse teste, efetuou-se a semeadura das sementes de cada indutor em sulcos de 1m de comprimento e 5 cm de profundidade, espaçados de 10 cm em canteiros. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, com contagem única aos 21 dias após semeadura.



Figura 3: Avaliação do teste de emergência em canteiro. Fonte: Silva, A. C. A.

- **Índice de Velocidade de Emergência** a partir do mesmo experimento anterior, efetuou-se a avaliação deste parâmetro, com base na contagem diária das plantas. A primeira contagem foi feita no quarto dia após o plantio e, assim sucessivamente, até completar 14 dias. Posteriormente, determinou-se esse índice de vigor, através da somatória do número de plântulas emergidas em cada dia, dividida pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a emergência, conforme a formula abaixo:

$$IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$$

Onde: IVE = índice de velocidade de emergência.

E1, E2,... En = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem.

N1, N2,... Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem.

### **3.3 – Análises estatísticas**

Para análises estatísticas, os dados foram inicialmente submetidos a análise de variância, considerando um delineamento inteiramente casualizado, composto pelos 9 genótipos em avaliação e com número de repetições variando em função do tipo de análise realizada. Em seguida, procedeu-se a avaliação das médias obtidas para os diferentes testes realizados para os nove genótipos em avaliação pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

Por fim, os indutores de haploidia foram agrupados com base em sua origem e tipo de sistema de indução de haploidia (gimnogênese ou androgênese), sendo comparados os diferentes grupos por meio dos seguintes contrastes ortogonais: i) Stock 6 *versus* Indutores gimnogenéticos; ii) W 23 *versus* indutores androgenéticos; iii) Híbridos TAILs *versus* linhagens TAILs e; iv) Indutores gimnogenéticos *versus* indutores androgenéticos. Todas as análises foram efetuadas com auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

#### 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos resultados obtidos para os testes de germinação, envelhecimento acelerado, peso de mil sementes, umidade, porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Estimativa de quadrados médios (QM genótipos), coeficiente de variação (CV%), média geral e valor de F calculado (F) para seis características avaliadas em sementes de nove indutores de haploidia em milho, no laboratório de análise de sementes da Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas – MG, em fevereiro de 2016.

Características	GL	QM		CV%	Média Geral	F
		Genótipo	Resíduo			
<b>Germinação</b>	8	253,94	39,66	8,01	78,6	6,402**
<b>Envelhecimento Acelerado</b>	8	153,50	16,69	11,48	35,58	9,195**
<b>Peso de 1000 sementes</b>	8	156,74	0,27	2,97	17,76	569,2*
<b>Umidade</b>	8	1,93	0,65	9,25	8,72	3,00*
<b>Porcentagem de emergência</b>	8	251,00	29,40	6,14	88,33	8,54**
<b>IVE</b>	8	23,95	1,99	5,62	25,14	11,98**

\*\*\* significativo a 5 e 1 %, respectivamente, pelo teste F.

Observaram-se valores significativos do teste F para todas as características avaliadas. Todas as características apresentaram valores abaixo de 12% de coeficiente de variação, o que é esperado, considerando que a maior parte das análises foi conduzida em laboratório, sob condições controladas.

A característica germinação (GER) indicou diferenças significativas entre os indutores, concordando com o observado em sementes de milho convencional por Rodrigues, A. B. (2007), onde as amostras de sementes de milho coletadas de produtores

rurais foram acondicionadas em sacos de papel e analisadas no Laboratório de Análises de Sementes da UNESP, campus de Jaboticabal-SP, atingiram um resultado médio de 75% de germinação. A média geral dos genótipos indutores para o teste padrão de germinação foi de 78,6% valor próximo recomendado pelo MAPA (Brasil, 2013) na Instrução Normativa n° 45, que indica que uma semente de milho comercial deve possuir o mínimo de 75% de germinação.

O teste de envelhecimento acelerado avaliou o vigor da semente após estresse de umidade e temperatura, apresentando diferenças significativas entre genótipos para essa característica. Rodrigues (2007) avaliou esta característica conforme as recomendações da International Seed Testing Association (ISTA), onde as sementes foram distribuídas em camada única e uniforme sobre tela de alumínio fixada em caixas plásticas do tipo gerbox e submetidas ao estresse, também obtendo resultados semelhantes para esta característica em relação a ANOVA.

Os indutores apresentaram resultados significativos para a característica de peso de 1000 sementes, demonstrando que existe variação entre os genótipos avaliados com relação ao tamanho e peso de sementes. Pela característica umidade, observou-se diferenças significativas entre os genótipos avaliados, o que condiz com resultados obtidos em outros experimentos. Henning et al. (2011), objetivou avaliar a qualidade fisiológica de sementes de duas cultivares de milho doce, utilizando um determinador de umidade para testes em sementes, onde as quais foram secadas à temperatura constante de 35 °C até atingirem 12% de umidade. Nesse experimento, os autores encontraram resultados semelhantes para umidade.

A porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência apresentaram variação entre os indutores. Estas características foram avaliadas conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para verificar a velocidade de germinação das sementes, foi calculado o Índice de Velocidade de Germinação pela equação de Maguire (1962). O uso de condições adversas na germinação das sementes permite verificar a qualidade fisiológica das sementes de milho, provenientes dos diversos tipos de manejos empregados na produção, colheita e armazenamento da cultura (JORGE et al., 2005; CARVALHO, et al., 2008).

A tabela 2 mostra o agrupamento dos genótipos pelo teste de Scott Knott. As médias para o teste de germinação (GER) variaram entre 93,5 e 70% de germinação, sendo que o indutor Stock 6 apresentou o maior valor para este parâmetro (93,5%).

**Tabela 2** – Agrupamento de médias pelo teste de Scott-Knott para as características avaliadas em sementes indutores de haploidia em milho, no laboratório de análise de sementes da Embrapa Milho e Sorgo.

Indutores	Características					
	GER	EA	PE	P1000 (g)	U(%)	IVE
Stock 6	93,5 a	27,3 b	94,5 a	21,0 c	9,5 a	29,4 a
Tail P1	78,5 c	37,5 a	82, b	22,3 b	8,3 a	24,1 b
Tail P2	77,0 c	25,8 b	88,5 b	16,7 d	8,9 a	26,0 b
Tail P1 x Tail P2	80,5 b	38,8 a	87,5 b	24,8 a	9,9 a	25,2 b
Tail P2 x Tail P1	74,0 c	38,0 a	85,0 b	18,5 e	7,6 a	23,8 b
W 23	67,0 c	31,8 b	73,0 c	11,6 h	6,9 a	20,4 c
90109 igig	82,5 b	43,3 a	98,0 a	15,5 f	8,6 a	26,8 b
91202 igig	84,5 b	42,5 a	98,0 a	15,8 f	9,8 a	26,1 a
91207 igig	70,0 c	35,5 a	82,5 b	12,4 g	8,6 a	24,8 b

Médias seguidas por uma mesma letra são pertencentes a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott a 5%. GER= Germinação; EA= envelhecimento acelerado; PE= Porcentagem de Emergência; P1000=peso de 1000 sementes; U(%)=Umidade em percentagem; IVE=Índice de Velocidade de Emergência.

Silva et al 2015, em seu trabalho caracterizou progenitores de milho na Embrapa avaliando a qualidade fisiológica da semente de 26 linhagens. Assim, descreveu que as sementes apresentam uma variação entre 83% e 98% de germinação, e após envelhecimento acelerado, uma taxa variando entre 75% e 96% de germinação. O resultado do teste de germinação das sementes indutoras, observado nesse trabalho, se enquadra então com o de sementes comerciais.

Não houve grande variabilidade dos genótipos para o teste de envelhecimento acelerado (EA), formando-se apenas dois grupos. Os resultados mostram que os indutores 90109 igig e 91202 igig apresentaram maior porcentagem de germinação após

envelhecimento acelerado nesse teste (43,3% e 42,5%, respectivamente). Esta característica avalia o vigor dos indutores após estresse, em que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente pela exposição a níveis muito adversos de temperatura e umidade relativa. Nessas condições, sementes de menor qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, com reflexos na germinação após o período de envelhecimento acelerado (MARCOS FILHO, 1994; TORRES & MARCOS FILHO, 2001).

No teste de porcentagem de emergência em canteiro (PE), formaram-se três grupos, sendo que os materiais com maior percentual de plântulas germinadas foram os indutores 90109 igig e 91202 igig, com 98% de emergência para ambos. Por sua vez, o teste de peso de 1000 sementes resultou em um maior número de agrupamentos, o que reflete a variabilidade das sementes dos indutores quanto ao tamanho e peso. Formaram-se oito grupos para os genótipos em avaliação no experimento.

Com relação ao peso de 1000 sementes, cabe destaque aos híbridos Tail P1 x Tail P2 e Tail P2 x Tail P1, em que o peso de 1000 sementes dos híbridos se aproximou sempre do peso de 1000 sementes da linhagem utilizada como genitor feminino (Linhagem Tail P1 ou Tail P2), mas com um ganho de peso que possibilitou o ranqueamento dos híbridos em um nível acima dos indutores. O híbrido Tail p1 x Tail p2 (24,8g) possuiu a linhagem Tail P1 como planta mãe que obteve o valor de 22,3g, enquanto o híbrido Tail P2 x Tail P1 (18,5g), possui a linhagem Tail P2 como mãe, com 16,7g. Esse resultado pode ter relação com a germinação observada (GER) para os híbridos Tail P1 x Tail P2 e Tail P2 x Tail P1, em que o híbrido que teve a linhagem Tail P1 como genitor feminino ficou alocado em um grupo acima do híbrido que teve a linhagem Tail P2 como parental feminino. Nesse caso, o tamanho e peso da semente poderia refletir um maior conteúdo de reservas, o que teria efeito na germinação inicial, e os valores do peso de 1000 sementes desses híbridos seriam esperados devido à relação com as linhagens de origem.

A umidade de grãos variou entre 6,9 a 9,9%, para os indutores de haploidia em avaliação, destacando que os materiais se agruparam em um único grupo. O grau de umidade ideal das sementes de milho convencional para plantio é em torno de 13% (MAPA, 2013). No trabalho de Goeten et al. (2015), avaliando a qualidade fitossanitária em sementes de milho, obtiveram taxas em torno de 9% de teor de água. No teste de velocidade de emergência (IVE), formaram-se três grupos, com a linhagem Stock 6 como



a de maior IVE e a linhagem W23 com o menor percentual para essa característica, com ambas as linhagens formando um grupo exclusivo.

A Tabela 3 mostra os indutores de haploidia avaliados nesse experimento agrupados conforme a origem e sistema de indução, para estudo por meio de contrastes ortogonais entre médias.

**Tabela 3** – Média e valores de F de contrastes ortogonais para seis características avaliadas em sementes, no laboratório de análise de sementes da Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas – MG.

Características	Stock 6 <i>versus</i> Indutores Gimnogenéticos			W23 <i>versus</i> Indutores Androgenéticos		
	Média 1º Grupo	Média 2º Grupo	Valor de F	Média 1º Grupo	Média 2º Grupo	Valor de F
GER	93,5	77,50	20,65**	67,0	79,00	16,64**
EA	27,3	35,0	11,51**	31,8	40,4	8,18*
P1000(g)	21,0	20,6	3,68	11,6	14,6	1,83
U (%)	9,5	8,7	1,56	6,9	9,1	3,34
PE (%)	95,0	86,3	8,33**	73,0	94,0	7,08*
IVE	29,4	24,8	33,87**	20,3	25,9	27,53**

Características	Linhagens Tails <i>versus</i> Híbridos “Tails”			Indutores Gimnogenéticos <i>versus</i> Indutores Androgenéticos		
	Média 1º Grupo	Média 2º Grupo	Valor de F	Média 1º Grupo	Média 2º Grupo	Valor de F
GER	77,3	77,8	5,30*	80,7	76,0	4,95*
EA	31,6	38,4	0,004	33,5	38,3	12,27*
P1000(g)	19,6	21,7	23,4*	20,7	13,9	3004,37*
U(%)	8,6	8,7	1,30	8,9	8,5	0,71
PE (%)	86,3	86,3	0,306	88,0	88,8	0,170
IVE	25,0	24,5	2,74	25,7	24,5	6,30*

\*, \*\* significativo aos níveis de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. GER = Germinação; EA= envelhecimento acelerado; P1000=peso de 1000 sementes; U(%)=Umidade de sementes, em percentagem; PE= Velocidade de emergência; IVE=índice de velocidade de emergência.

O contraste entre o indutor Stock 6 e os demais Indutores Gimnogenéticos (Tail P1, Tail P2 e os híbridos Tail P1 x Tail P2 e Tail P2 x Tail P1) apresentou resultado significativo para os testes de germinação (GER), envelhecimento acelerado (EA), porcentagem de emergência (PE) e índice de velocidade de emergência (IVE). A linhagem Stock 6, que também é um indutor Gimnogenético, apresentou média superior para germinação e médias inferiores para a característica envelhecimento acelerado, demonstrando que embora esse genótipo tenha um alto poder germinativo, essa capacidade de germinação pode ser reduzida ou prejudicada em condições de estresse. Outra hipótese é que o processo de tropicalização pelo qual os indutores Tails passaram tenha aumentado o vigor das sementes desses genótipos.

A linhagem Wisconsin 23 (W23), gera haploides androgenéticos, porém, em comparação com a linhagem Stock 6, possui menor taxa de indução. Porém, a avaliação do contraste W-23 vs Indutores Androgenéticos demonstrou diferenças significativas para GER, EA, PE e IVE, com superioridade dos indutores 91202, 90109 e 91207 para todas as características avaliadas.

O contraste entre os grupos Híbridos Tails versus Linhagens Tails apresentou resultado significativo para as comparações dos parâmetros germinação (GER) e Peso de 1000 sementes (P1000), indicando valor superior das médias dos híbridos em relação as linhagens indutoras. Esse resultado reflete o efeito de heterose obtido do cruzamento entre indivíduos contrastantes e complementares. Gomes et al. (2000) verificou o efeito da heterose na qualidade fisiológica de sementes de linhagens e híbridos de milho durante o processo de melhoramento, onde sementes híbridas de milho apresentaram qualidade fisiológica superior quando comparadas à das linhagens, evidenciando a expressão. O trabalho de Prazeres (2014), demonstrou a heterose sobre a produtividade do milho híbrido, porém, mesmo possuindo maior heterose no híbrido simples, não condiz com a maior qualidade fisiológica de sementes. Para garantir se essa herança é ou não decorrente do efeito materno, ou seja, influenciado pelo genitor feminino independentemente dos genes doados pelo parental masculino, é necessário realizar cruzamentos recíprocos (CRUZ et al., 2004), assegurando a escolha adequada do genitor feminino a fim de aumentar a qualidade fisiológica de sementes de milho e também a produtividade.

O contraste Indutores Gimnogenéticos vs Indutores Androgenéticos apresentou efeitos significativos para os testes de germinação, envelhecimento acelerado e peso de 1000 sementes. Percebe-se que os indutores gimnogenéticos apresentam maior

germinação e peso de 1000 grãos, características que podem estar ligadas a uma maior quantidade de reservas na semente. O processo de germinação de sementes necessita de condições externas e internas favoráveis, como a mesma estar viva e sem dormência e, encontrar condições adequadas de água, temperatura e oxigênio (Novembre et al., 2007). Porém, o teste de envelhecimento acelerado, que tem como propósito avaliar o vigor das sementes, indicou maior valor de germinação de sementes após estresse no grupo de indutores androgenéticos, o que pode estar relacionado a maior intensidade de tropicalização neste grupo em comparação com o grupo de indutores gimnogenéticos, o que resultaria em maior vigor para este grupo.

## **5 – CONCLUSÕES**

Existe diferença na qualidade fisiológica de sementes de indutores de haploidia em função do tipo de indutor e de seu grau de adaptabilidade ao ambiente tropical.

Os contrastes avaliados expressaram diferenças principalmente para o potencial de germinação e vigor da semente.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIGRÁFICAS

ANDRADE, R. V.; AUZZA, S. A. Z.; ANDREOLI, C.; NETTO, D. A. M.; OLIVEIRA, A. C. Qualidade fisiológica das sementes do milho híbrido simples hs 200 em relação ao tamanho. Ciênc. agrotec., v.25, n.3, p.576-582, maio/jun., 2001.

ANDRIAZZI, C. V. G. Dissertação: Adequação da metodologia teste de frio para avaliação do vigor de sementes de sorgo. Universidade Federal de Uberlândia. 2007.

BELICUAS, P. R.. Universidade Federal de Lavras (2004). Obtenção, identificação e caracterização de haploides androgenéticos em milho.

BORÉM, A.; MIRANDA. Melhoramento de plantas. Viçosa, MG: Ed. UFV, 523p. 2009.

BORÉM, A.; MIRANDA. Melhoramento de plantas. Viçosa, MG: Ed. UFV, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília.2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 399 p. 2009.

CARVALHO, E. V. D; SIEBENEICHLER, S. C., MATOS W. L., SANTOS, R. P. L. Qualidade fisiológica de sementes de milho sob diferentes condições de armazenamento. Scientia Agraria Paranaensis Volume 9, número 3, 2010.

CARVALHO, E. V., AFFÉRI, F. S., SIEBENEICHLER, S. C., MATOS, W. L.; SANTOS, R. P. L. Germinação e Vigor de Sementes de Milho Armazenadas nas Condições Ambientais do Sul do Tocantins. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo.

CRISTELI, Dardânia Soares, Universidade Federal de São Joao Dei,2016, Qualidade Fisiológica de Sementes Híbridas de Milho e Seus Parentais.

DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Avaliação da qualidade de sementes de milho. Londrina: IAPAR, 1995. 43 p. (Circular Técnica, 88).

FERREIRA, D. F. Programa computacional Sisvar - UFLA, versão 5.3, 2010.

FREITAS, R. A.; NASCIMENTO, W. M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 28, nº 3, p.59-63, 2006.

HENNING, F. A.; JUNIOR, E. A. J.; MERTZ L. M.; PESKE, S. T. Qualidade sanitária de sementes de milho em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Sementes*, 2011.

OLIVEIRA, Anna Christina Sanazário; M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro de 2009, Qualidade fisiológica de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens reutilizáveis sob dois ambientes.

Pereira, C. E.; Oliveira, J. A.; Evangelista, J. R. E. Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas associadas a polímeros durante o armazenamento. *Revista Ciênc. agrotec., Lavras*, v. 29, n. 6, p. 1201-1208, nov./dez., 2005.

PERES W. L. R. Dissertação: Testes de vigor em sementes de milho. Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal- SP. Fevereiro de 2010.

PRASAMA, B.M, CHAIKAM, V., MAHUKU, G. (2012). Tecnología de dobles haploides em el mejoramiento de maíz: Teoría y práctica.

RABEL, M. Universidade Federal de Lavras (2008). Haploides androgeneticos em milho tropical.

REIS, L. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. R.; MEIRELES, R. C. Efeito da heterose na qualidade de sementes de milho doce. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 33, nº 2 p. 310 - 315, 2011.

RIBEIRO, Camila Bastos, Universidade Federal de Lavras (2016). Estratégias para Obtenção de Duplo - Haploides e Progênies Indutoras de Haploidia em Milho.

SILVA, G. J. (2009). Desenvolvimento de marcadores moleculares do gene *gametófito indeterminado* (*igl*) em genótipo de milho. Universidade Federal de Lavras.

SILVA, M. L.; NETTO, D. A. M.; OLIVEIRA, I. C. M.; SILVA, J. S. Caracterização, produção e qualidade fisiológica de sementes em linhagens de milho. XIX Congresso Brasileiro de Sementes, 2015.

TRINDADE, R. S.; SILVA, A. C. A.; MARIZ, B. L.; GUIMARAES, L. J. M.; SOUZA, I. R. P.; GUIMARAES, P. E. O.; NETTO, D. A. M. (2015). Características agronômicas de indutores de haploidia androgenéticos e gimnogenéticos adaptados ao ambiente tropical. In: 8º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2015, Goiânia-GO. Anais do 8º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2015.