

Divergência genética e heterose relacionada à qualidade fisiológica em sementes de milho

Genetic divergence and heterosis related to physiological quality in maize seeds

Camila Segalla Prazeres, Cileide Maria Medeiros Coelho*

Universidade do Estado de Santa Catarina - Agronomia - Lages (SC), Brasil.

RESUMO: Estudos precoces com relação à seleção de linhagens de milho, com base em características de qualidade de sementes, podem ser explorados em programas de melhoramento nas primeiras etapas da obtenção de híbridos. O objetivo deste estudo foi analisar a divergência genética e a heterose associadas à qualidade fisiológica de sementes, em função do vigor, para a composição bioquímica na obtenção de milho híbrido. No experimento, foram utilizadas sementes de 8 linhagens e 3 híbridos de milho (híbrido simples, triplo e triplo modificado). Avaliaram-se os componentes bioquímicos nas sementes por meio dos teores de amido, proteína total, fósforo total, ferro e zinco. Com base no método de Singh, observou-se que a variável que mais contribuiu para a divergência genética quanto à composição bioquímica das sementes foi o teor de amido, com 46,47%. Constatou-se divergência genética e heterose para a composição bioquímica das sementes, indicando que essa característica pode ser explorada em programas de melhoramento visando à qualidade das sementes. O híbrido simples, composto pelas linhagens 2 e 4, foi indicado como a melhor combinação para a composição bioquímica nas sementes, com as maiores heteroses para os teores de amido, fósforo, ferro e zinco.

Palavras-chave: *Zea mays* L., composição bioquímica, linhagens.

ABSTRACT: Early studies with regard to the selection of maize lines based on seed quality characteristics can be exploited in breeding programs in the early stages of hybrids achievement. The objective of this study was to analyze the genetic diversity and the heterosis associated with physiological quality of seeds, in function of the force, for biochemical composition in the achievement of hybrid corn. In the experiment, seeds from 8 lines and 3 maize hybrids (single hybrid, triple and modified triple) were used. Biochemical components in the seeds were evaluated by means of starch content, total protein, total phosphorus, iron and zinc. Based on Singh's method, it was observed that the variable which most contributed to genetic divergence on the biochemical composition of the seeds was the starch content, with 46.47%. Genetic diversity and heterosis were found for the biochemical composition of the seeds, indicating that this feature can be exploited in breeding programs aiming at the quality of the seeds. The simple hybrid, composed of the strains 2 and 4, was indicated as the best match for the biochemical composition in seeds, with the highest heterosis for starch content, phosphorus, iron and zinc.

Key words: *Zea mays* L., biochemical composition, lines.

*Autor correspondente: cileide.souza@udesc.br

Recebido: 12 Ago. 2015 – Aceito: 1 Fev. 2016

INTRODUÇÃO

O vigor é uma característica importante da qualidade das sementes, que reflete no crescimento de plântulas, longevidade e tolerância às adversidades (Sun et al. 2007). Nos últimos anos, a ênfase para a melhoria do vigor de sementes deslocou-se em função do potencial genético (Cheng et al. 2013); assim, o fato de haver variabilidade indica que esta característica pode ser explorada em programas de melhoramento durante o desenvolvimento de um híbrido (Gondim et al. 2006).

A mobilização de reservas nas sementes está relacionada com a manutenção e desenvolvimento do embrião até a formação da plântula (Weidlich et al. 2010). Os teores de amido, proteína total, fósforo total, ferro e zinco são um dos principais compostos bioquímicos presentes em sementes de milho e podem contribuir para a retomada do crescimento do embrião. O amido é, em grande parte, sintetizado nas sementes em desenvolvimento, sendo sua função biológica fornecer energia para o estabelecimento inicial de plântulas (Tetlow 2011). Entre outras substâncias armazenadas, as que estão presentes em maior quantidade são as proteínas, que têm como função principal fornecer carbono e nitrogênio, utilizados na germinação e desenvolvimento da plântula (Ferreira e Borghetti 2004).

Nas sementes, as reservas de macro e micronutrientes são necessárias para o início do desenvolvimento das plântulas. A maioria da reserva de fósforo nas sementes é remobilizada durante a germinação e o crescimento inicial das plântulas (Nadeem et al. 2012). O fósforo é um dos micronutrientes encontrados em maior abundância no milho, e os micronutrientes, como ferro e zinco, apresentam-se em menores quantidades (Paes 2006), os quais desempenham funções em rotas bioquímicas que garantem a formação de lipídeos, proteínas e estruturação das membranas celulares (Prado et al. 2007).

O estudo da divergência e das relações genéticas visa dar suporte às estratégias de seleção para melhoria da qualidade fisiológica de sementes (Cardoso et al. 2009). Dessa forma, a determinação antecipada da composição bioquímica das sementes associada com a qualidade fisiológica é de grande importância nos programas de melhoramento, principalmente no momento da escolha das linhagens para a obtenção de híbridos de milho de alta qualidade. O objetivo deste estudo foi analisar a divergência genética e a heterose associadas à qualidade fisiológica de sementes, em função do vigor, para a composição bioquímica na obtenção de milho híbrido.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Sementes da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UEDESC), no município de Lages, Santa Catarina. As sementes de 8 linhagens de milho, numeradas de 1 a 8, e seus respectivos híbridos simples, compostos pelas linhagens 2 e 4, triplo modificado ($1 \times 7/6 \times 8$) e triplo ($3 \times 5/1$), utilizadas no trabalho, foram cedidas por uma empresa localizada no município de Coxilha, Rio Grande do Sul. As linhagens foram produzidas na safra de 2010/2011 e os híbridos, na safra de 2013/2014.

No experimento, utilizaram-se $250 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de adubo NPK na fórmula 5-25-25 e adubação de cobertura com $250 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de sulfureia. O solo é caracterizado como Latossolo Vermelho. Foi realizado controle de pragas e plantas daninhas com produtos registrados para a cultura do milho. A colheita foi realizada manualmente, sempre nos meses de Abril/Maio. As espigas colhidas com 35% de umidade foram secas artificialmente até atingirem umidade em torno de 13%.

A amostra média (1 kg) foi obtida na colheita de forma representativa do lote para as linhagens e híbridos. No laboratório, a amostra média foi reduzida pelo processo de divisões sucessivas para a amostra de trabalho (900 g) (Brasil 2009). A amostra de trabalho foi utilizada para realizar a análise bioquímica, a qual foi dividida em 3 repetições, por meio do homogeneizador.

O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h (Brasil 2009). As sementes foram mantidas em câmara seca, com temperatura de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ e 50% de umidade, até a realização das análises. Depois de retiradas da câmara seca, as sementes foram previamente moídas para compor amostras de 100 g. A partir dessa amostra, foram realizadas as análises bioquímicas com o propósito de verificar o teor de amido, proteína total, fósforo, ferro e zinco.

O teor de amido foi obtido a partir do método de titulometria de McCready et al. (1950), em que se utilizou a solução de hidróxido de sódio a 10% e ácido clorídrico a 50%. A neutralização foi realizada com a solução de hidróxido de sódio a 10% até a obtenção do pH 7; posteriormente, determinou-se o teor de amido por meio da titulação com soluções de Fehling.

Para a análise da proteína total, utilizou-se o método de Kjeldahl (AOAC 1984) e, inicialmente, procedeu-se a

→

digestão sulfúrica conforme descrito por Tedesco et al. (1985). Utilizaram-se 10 mL do extrato em um tubo de digestão e 5 mL de hidróxido de sódio para a destilação até serem coletados 40 mL em um erlenmeyer contendo 5 mL de indicador de ácido bórico. As amostras foram tituladas com H_2SO_4 0,25 M e, ao final, as amostras foram convertidas à proteína bruta por meio do fator 6,25 (AOAC 1984).

Realizou-se digestão sulfúrica para a determinação de fósforo, ferro e zinco. Na determinação do fósforo total, transferiu-se 1 mL do extrato para copo descartável, acrescentaram-se 2 mL de água destilada, 3 mL de solução P-B e 3 gotas de solução P-C. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro na faixa de 660 nm (Tedesco et al. 1985). Para a determinação do ferro e do zinco, foram pipetados 10 mL de sobrenadante, adicionados 5 mL da solução restante e 10 mL de água destilada e foi determinada a absorbância no espectrofotômetro de absorção atômica (Tedesco et al. 1985).

A determinação da heterose (H%) para composição bioquímica das sementes foi realizada conforme a seguinte fórmula:

$$H\% = \frac{\text{Média do híbrido} - \text{Média dos pais}}{\text{Média dos pais}} \times 100$$

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 3 repetições. Os dados transformados por arco seno foram submetidos à análise de variância ($p < 0,01$) e ao teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) para comparação entre as médias. O método de Singh (1981) foi utilizado para analisar os caracteres que mais contribuíram para a divergência genética entre os genótipos avaliados, por meio da distância generalizada de Mahalanobis (D^2). Utilizaram-se as análises de agrupamento e variáveis canônicas para a indicação dos melhores cruzamentos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Programa Genes (Cruz 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância mostraram diferenças significativas entre as linhagens e híbridos em todas as características bioquímicas analisadas (teor de amido, proteína total, fósforo, ferro e zinco), indicando que existe diversidade genética.

O teor de amido nas sementes das linhagens variou de 32 a 52%. A linhagem 8 foi superior às demais (52%). Os híbridos 11 e 10 não diferiram estatisticamente entre si para teor de amido, apresentando valores de 42 e 41%, respectivamente, seguidos do híbrido 9, com 37% (Tabela 1). Amaral et al. (2007) encontraram teores de amido em sementes de milho híbrido de $53,39 \pm 3,20\%$, corroborando os resultados apresentados para as linhagens.

A estimativa da heterose revela o potencial das linhagens para combinações híbridas. A heterose, para teor de amido, foi determinada a partir das combinações entre as linhagens das quais se obtiveram os híbridos e variou entre $-9,39\%$ (híbrido 10) e $10,44\%$ (híbrido 9), mostrando que, no último, obteve-se elevada heterose. Segundo Mahesh et al. (2013), ao estudarem 87 híbridos simples de milho a partir de 29 cruzamentos avaliando amido, obteve-se a maior heterose, de $3,44\%$, no híbrido ARBMH 09-45, a qual foi indicada com nível bom.

O percentual de proteína total entre as linhagens esteve entre 8 e 12%. As linhagens 2, 7 e 1 apresentaram os maiores teores (12, 12 e 11%, respectivamente), não diferindo estatisticamente entre si. A linhagem 5 foi a que apresentou menor teor, com 8%, conforme a Tabela 1. Os híbridos 9 e 10 obtiveram o maior teor de proteína total (10%) em relação ao híbrido 11. As sementes de linhagens e híbridos demonstram boa composição bioquímica, semelhantemente a outros estudos. Jesus et al. (2008) referem que o teor de proteína em milho pode variar de $8,68$ a $12,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Já no trabalho de Mahesh et al. (2013), em que se avaliou a capacidade combinatória para produtividade, amido, proteína e teor de óleo em híbridos simples de milho e suas linhagens, o maior teor de proteína registrado nos híbridos foi de $15,84\%$, evidenciando que é possível obter valores ainda mais altos com relação aos encontrados neste trabalho.

Apesar da diversidade genética para o teor de proteína total nas sementes das linhagens, a heterose foi negativa nos híbridos, com variação de $-6,97\%$ (híbrido 10) a -40% (híbrido 11), ou seja, houve declínio no teor de proteína, não existindo ganho genético para a característica avaliada, o que foi coincidentemente observado por outros autores, como Jesus et al. (2008), os quais constataram a manifestação do efeito heterótico negativo de $-0,063\%$ para o teor de proteína total. Entretanto, no trabalho de Oliveira et al. (2004), em que se investigaram populações de polinização aberta de milho de alta qualidade proteica (QPM) e seus cruzamentos, quanto ao teor de proteína total na semente, ressaltou-se a

manifestação da heterose, caracterizando uma potencialidade dos genitores para os programas de melhoramento genético de milho.

O teor de fósforo observado foi de 3.215 mg·kg⁻¹, na linhagem 8, a 3.992 mg·kg⁻¹, na linhagem 7, conforme a Tabela 1. Os híbridos avaliados atingiram teores de 3.828 mg·kg⁻¹ (híbrido 9) a 2.189 mg·kg⁻¹ (híbrido 11). Esse resultado corrobora outros trabalhos, como o de Guimarães et al. (2005), que, ao avaliarem a diversidade dos teores de minerais em sementes de linhagens de milho, conseguiram alcançar valores de 3.293 mg·kg⁻¹ a 4.971 mg·kg⁻¹. A amplitude de variação para as estimativas da heterose, obtida pelo teor de fósforo, foi de 0,07% (híbrido 9) a -37,26% (híbrido 11), demonstrando que, no híbrido 11, não houve a manifestação da heterose, pois foi alcançado resultado negativo; já com o híbrido 9, houve heterose.

As linhagens apresentaram teores de ferro entre 86 e 103 mg·kg⁻¹. Os híbridos 9 e 10 obtiveram os maiores teores de ferro, com 125 e 112 mg·kg⁻¹, respectivamente, seguidos do híbrido 11, com 90 mg·kg⁻¹ (Tabela 1). As sementes apresentaram teores de ferro elevados, diferentemente dos valores encontrados no trabalho de Menkir (2008), no qual se avaliaram 278 linhagens de milho em 5 ambientes, com variação no teor de ferro entre 12 e 37 mg·kg⁻¹ pelo mesmo método utilizado neste trabalho. A variação para a estimativa da heterose foi de -2,96% (híbrido 11) a 27,27% (híbrido 10), mostrando que, no híbrido 11, não houve efeito da heterose em relação aos pais, mas, nos demais (9, 10), essa característica foi evidenciada.

Com relação ao teor de zinco nas linhagens, a variação permaneceu entre 32 e 46 mg·kg⁻¹. Já nos híbridos, os teores obtidos foram de 18 (11) a 43 mg·kg⁻¹ (9), como observado na Tabela 1. Teores de zinco com resultados semelhantes foram encontrados por Queiroz et al. (2011), em um estudo caracterizando linhagens de milho em relação ao zinco, os quais observaram teores de zinco entre 17,5 e 42 mg·kg⁻¹. As estimativas da heterose para os híbridos variaram entre -32,91% (híbrido 10) e 10,25% (híbrido 9), sendo que o híbrido 9 apresentou heterose para o teor de zinco.

Além das características bioquímicas, outros trabalhos demonstraram a importância da qualidade fisiológica associada à heterose em sementes de milho para a seleção de genótipos, como o trabalho apresentado por Oliveira et al. (2013), em que se analisou a qualidade fisiológica de sementes de milho com diferentes genótipos e tamanhos, além da expressão gênica da enzima α -amilase. Abreu et al. (2014), também através da qualidade fisiológica das sementes e dos sistemas enzimáticos, afirmaram que a avaliação prévia pode fornecer parâmetros para a seleção de linhagens na obtenção de novos híbridos de milho.

Para avaliar a importância relativa das 5 variáveis na determinação da qualidade fisiológica das sementes, através da composição bioquímica, foi empregado o método de Singh (1981), indicando que o teor de amido (46,47%) foi a variável que mais contribuiu para a divergência genética, seguido do teor de proteína total (28,75%), teor de zinco (13,52%), teor de fósforo total (5,91%) e, por último, teor de ferro (5,33%) (Figura 1).

Tabela 1. Composição bioquímica das sementes das linhagens (1 a 8) e dos híbridos de milho: simples, triplo modificado e triplo (9 a 11), bem como o ganho genético estimado pela heterose para as sementes.

Genótipos	Amido (%)	H%	Proteína (%)	H%	Fósforo (mg·kg ⁻¹)	H%	Ferro (mg·kg ⁻¹)	H%	Zinco (mg·kg ⁻¹)	H%
1	43b	-	11a	-	3.521a	-	86b	-	45a	-
2	32d	-	12a	-	3.923a	-	103b	-	46a	-
3	35c	-	10b	-	3.468a	-	101b	-	38a	-
4	35c	-	10b	-	3.727a	-	98b	-	32b	-
5	39c	-	8c	-	3.447a	-	98b	-	32b	-
6	43b	-	10b	-	3.738a	-	91b	-	46a	-
7	43b	-	12a	-	3.992a	-	86b	-	36b	-
8	52a	-	10b	-	3.215a	-	89b	-	34b	-
9 (2 × 4)	37c	10,44	10b	-9,09	3.828.a	0,07	125a	24,37	43a	10,25
10 (1 × 7/6 × 8)	41b	-9,39	10b	-6,97	3.484a	-3,66	112a	27,27	27b	-32,91
11 (3 × 5/1)	42b	5,0	6d	-40,0	2.189b	-37,26	90b	-2,96	18c	-55,0
CV (%)	4,86		7,87		11,20		10,11		19,12	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). H% = Heterose.

Há divergência genética para o teor de amido, e esse fato pode ser um indicativo de heterose na obtenção de linhagens para se obterem outras combinações híbridas, ao contrário do teor de ferro, que foi a variável de menor contribuição pelo método de Singh (1981), sugerindo descarte dessa variável para futuros trabalhos.

A análise de agrupamento de Singh (1981) para a composição bioquímica entre as linhagens proporcionou a formação de 3 grupos geneticamente distintos (Tabela 2). O grupo I foi formado pelas linhagens 2, 3, 4 e 5; o grupo II, pelas linhagens 1, 6 e 7, e o grupo III, somente pela linhagem 8. Observou-se que o grupo II apresentou médias superiores de qualidade fisiológica relacionada com a composição bioquímica das sementes, com exceção dos teores de amido (43%) e ferro (87%), teor de proteína (11%), teor de fósforo ($3.750 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) e teor de zinco ($42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (Tabela 2). Esse grupo foi escolhido para indicar as melhores linhagens para futuros cruzamentos.

A divergência dos dados permitiu a decomposição nos 3 eixos pela análise de variáveis canônicas, com as 2 primeiras variáveis maiores que 80%; assim, no emprego da primeira (53,70%) e da segunda (88,13%), foi possível explicar a variação total. A dispersão das variáveis canônicas proporcionou a formação de 5 grupos a partir da divergência genética para as características de composição bioquímica das sementes.

Os agrupamentos obtidos pelo gráfico de dispersão (Figura 2) foram concordantes com aqueles obtidos pelo

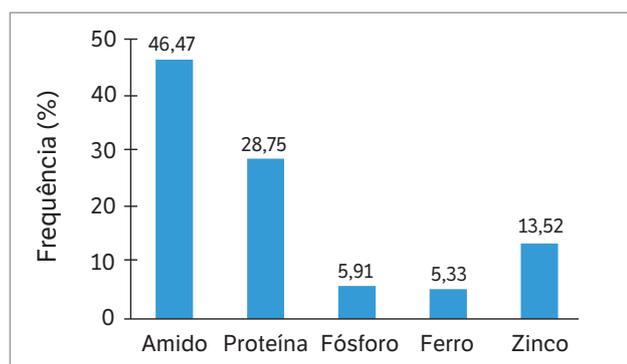


Figura 1. Contribuição relativa das variáveis para composição bioquímica (%) em linhagens e híbridos de milho pelo critério de Singh (1981).

método de Singh com relação às linhagens; porém, com a inclusão dos híbridos, observou-se a formação de 5 grupos geneticamente distintos.

O grupo I foi formado pelas linhagens e híbridos 1, 6, 7 e 10; o grupo II foi formado pelas linhagens 2, 3, 4 e 5; o grupo III foi formado pelo híbrido 9; o grupo IV, pelo híbrido 11, e o grupo V, pela linhagem 8. Essas informações também podem ser usadas em programas de melhoramento genético, pois identificam os genitores divergentes para novos cruzamentos.

A contribuição genética dos pais na qualidade de semente de milho em cruzamentos intervarietais foi verificado por Nerling et al. (2013), que utilizaram variedades crioulas, variedades de polinização aberta e híbridos comerciais de milho, obtendo resultados dos melhores cruzamentos para a produção de sementes de melhor qualidade fisiológica. Em um trabalho anterior de Prazeres e Coelho (2016) sobre a contribuição genética de linhagens para a qualidade fisiológica das sementes na obtenção de híbridos de milho, foi constatado que as linhagens 2 e 4, que compõem o híbrido simples também apresentado neste trabalho, apresentaram qualidade fisiológica superior. A análise da divergência genética em sementes de milho pode fornecer informações úteis para a identificação de grupos de linhagens as quais podem ser exploradas pela produção de híbridos altamente heteróticos (Ahmad et al. 2011).

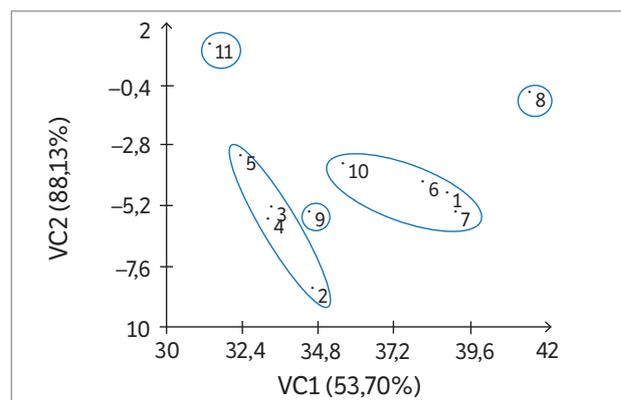


Figura 2. Dispersão das linhagens e híbridos de milho, em relação às 2 primeiras variáveis canônicas (VC1 e VC2), com base na composição bioquímica das sementes.

Tabela 2. Agrupamentos estabelecidos pelo método de Singh (1981) baseados na composição bioquímica das sementes de linhagens de milho.

Grupos	Genótipos	Amido (%)	Proteína (%)	Fósforo ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Ferro ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Zinco ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
I	2 - 3 - 4 - 5	35	10	3.641	100	37
II	1 - 6 - 7	43	11	3.750	87	42
III	8	52	10	3.215	89	34

Neste trabalho, o híbrido simples apresentou-se como o melhor em relação aos demais, demonstrando maior heterose para a maioria dos componentes bioquímicos, com exceção do teor de proteína, além da manutenção da produtividade. Assim, constatou-se que essas características apresentaram contribuição genética para os teores de amido, fósforo, ferro e zinco.

CONCLUSÃO

Existe divergência genética na composição bioquímica das sementes para todos os componentes, mas a heterose foi dependente das combinações entre as linhagens. O híbrido simples, composto pelas linhagens 2 e 4, apresentou a maior heterose e foi indicado como o melhor para as características de composição bioquímica. Obteve-se

heterose para a composição bioquímica de sementes de milho, e esse resultado pode dar subsídio à escolha de genitores visando à obtenção de genótipos com qualidade fisiológica superior.

AGRADECIMENTOS

À empresa Semilha Possa & Cia, pela doação das sementes. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa PQ2 - CNPQ ao segundo autor. À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC nº 10.043/2012-9) e PAP-FAPESC-CP 04/2014 2015 TR 649/FAPESC pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Abreu, V. M., von Pinho, E. V. R., von Pinho, R. G., Naves, G. M. F., Silva Neta, I. C., Guimarães, R. M. e Carvalho, M. R. (2014). Physiological performance and expression of isozymes in maize seeds subjected to water stress. *Journal of Seed Science*, 36, 40-47. <http://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372014000100005>.
- Ahmad, S. Q., Khan, S. e Ahmad, G. (2011). Genetic diversity analysis for yield and other parameters in maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 3, 385-388.
- Amaral, L. I. V., Gaspar, M., Costa, P. M. F., Aidar, M. P. M. e Buckeridge, M. S. (2007). Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea*, 3, 425-431.
- Association of Official Analytical Chemists (1984). *Official methods of analysis*. Washington: AOAC.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária (2009). *Regras para análise de sementes*. Brasília: MAPA/ACS.
- Cardoso, D. C., Silva, R. F., Pereira, M. G., Viana, A. P. e Araújo F. A. (2009). Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. *Revista Ceres*, 56, 572-579.
- Cheng, X., Cheng, J., Huang, X., Lai, Y., Wang, L., Du, W., Wang, Z. e Zhang, H. (2013). Dynamic quantitative trait loci seed analysis reserve use during three rice germination stage. *Plos One*, 8, 11. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0080002>.
- Cruz, C. D. (2006). *Programa Genes: biometria*. Viçosa: UFV.
- Ferreira, A. G. e Borghetti, F. (2004). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed.
- Gondim, T. C. O., Rocha, V. S. R., Santos, M. M. e Miranda, G. V. (2006). Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho-crioulo sob estresse causado por baixo nível de nitrogênio. *Revista Ceres*, 53, 413-417.
- Guimarães, P. E. O., Ribeiro, P. E. A., Paes, M. C. D., Schaffert, R. E., Alves, V. M. C., Coelho, A. M., Nutti, M., Viana, J. L. C., Nogueira, A. R. A. e Souza, G. B. (2005). Caracterização de linhagens de milho quanto aos teores de minerais nos grãos. Sete Lagoas: Embrapa/CNMS. (Circular Técnica, 64).
- Jesus, W. C., Brasil, E. M., Oliveira, J. P., Pinto, G. R. C., Chaves, L. J. e Ramos, M. R. (2008). Heterose para teor de proteína no grão em cruzamentos entre populações de milho derivadas de híbridos comerciais. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 38, 32-38.
- Mahesh, N., Wali, M. C., Gowda, M. V. C., Motagi, B. N. e Uppinal, N. F. (2013). Genetic analysis of grain yield, starch, protein and oil content in single cross hybrids of maize. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 26, 185-189.

- McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V. e Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. *Analytical Chemistry*, 22, 1156-1158. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60045a016>.
- Menkir, A. (2008). Genetic variation for grain mineral content in tropical-adapted maize inbred lines. *Food Chemistry*, 110, 454-464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.025>.
- Nadeem, M., Mollier, A., Morel, C., Vives, A., Prud'homme, L. e Pellerin, S. (2012). Maize (*Zea mays* L.) endogenous seed phosphorus remobilization is not influenced by exogenous phosphorus availability during germination and early growth stages. *Plant and Soil*, 357, 13-24. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-011-1111-5>.
- Nerling, D., Coelho, C. M. M., Nodari, R. O. (2013). Genetic diversity for physiological quality of seeds from corn (*Zea mays* L.) intervarietal crossbreeds. *Journal of Seed Science*, 35, 449-456. <http://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372013000400006>.
- Oliveira, G. E., von Pinho, R. G., Andrade, T., von Pinho, E. V. R., Santos, C. D. e Veiga, A. D. (2013). Physiological quality and amylase enzyme expression in maize seeds. *Ciência e Agrotecnologia*, 37, 40-48. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542013000100005>.
- Oliveira, J. P., Chaves, L. J., Duarte, J. B., Brasil, E. M., Ferreira Junior, L. T. e Ribeiro K. O. (2004). Teor de proteína no grão em populações de milho de alta qualidade protéica e seus cruzamentos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 34, 45-51.
- Paes, M. C. D. (2006). Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. (Circular Técnica, 75).
- Prado, R. M., Natale, W. e Mouro, M. C. (2007). Fontes de zinco aplicado via semente na nutrição e crescimento inicial do milho cv. Fort. *Bioscience Journal*, 23, 16-24.
- Prazeres, C. S. e Coelho, C. M. M. (2016). Heterose para qualidade fisiológica de sementes na obtenção de híbridos de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 15, 124-133.
- Queiroz, V. A. V., Guimarães, P. E. O., Queiroz, L. R., Guedes, E. O., Vasconcelos, V. D. B., Guimarães, L. J., Ribeiro, P. E. A. e Schaffert, R. E. (2011). Iron and zinc availability in maize lines. *Food Science and Technology*, 31, 577-583. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612011000300005>.
- Singh, D. (1981). The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 41, 237-245.
- Sun, Q., Wang, J. e Sun, B. (2007). Advances on seed vigor physiological and genetic mechanisms. *Agricultural Sciences in China*, 6, 1060-1066. [http://dx.doi.org/10.1016/S1671-2927\(07\)60147-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1671-2927(07)60147-3).
- Tedesco, M. J., Volkweiss, S. J. e Bohnen, H. (1985). Análises de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Tetlow, I. J. (2011). Starch biosynthesis in developing seeds. *Seed Science Research*, 21, 5-32. <http://dx.doi.org/10.1017/S0960258510000292>.
- Weidlich, E. W. A., Pescador, R. e Uhlmann, A. (2010). Alocação de recursos (carboidratos) no desenvolvimento inicial de plântulas de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake (Fabaceae - Caesalpinioideae). *Revista Árvore*, 34, 627-635. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622010000400007>.