

**IMPLICAÇÕES DO FENÔMENO XÊNIA NOS
PROGRAMAS DE MELHORAMENTO DE
MILHO**

JULIANE REZENDE MERCER

2001

JULIANE REZENDE MERCER

**IMPLICAÇÕES DO FENÔMENO XÊNIA NOS PROGRAMAS DE
MELHORAMENTO DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Mercer, Juliane Rezende

Implicações do fenômeno Xênia nos programas de melhoramento de milho /
Juliane Rezende Mercer. -- Lavras : UFLA, 2001.

53 p. : il.

Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Milho. 2. Melhoramento genético. 3. Fenômeno Xênia. 4. Fertilização
cruzada. 5. Endosperma. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.153

JULIANE REZENDE MERCER

**IMPLICAÇÕES DO FENÔMENO XÊNIA NOS
PROGRAMAS DE MELHORAMENTO DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADO em 8 de fevereiro de 2001.

Dr. Pedro Hélio Estevam Ribeiro

Embrapa – Roraima

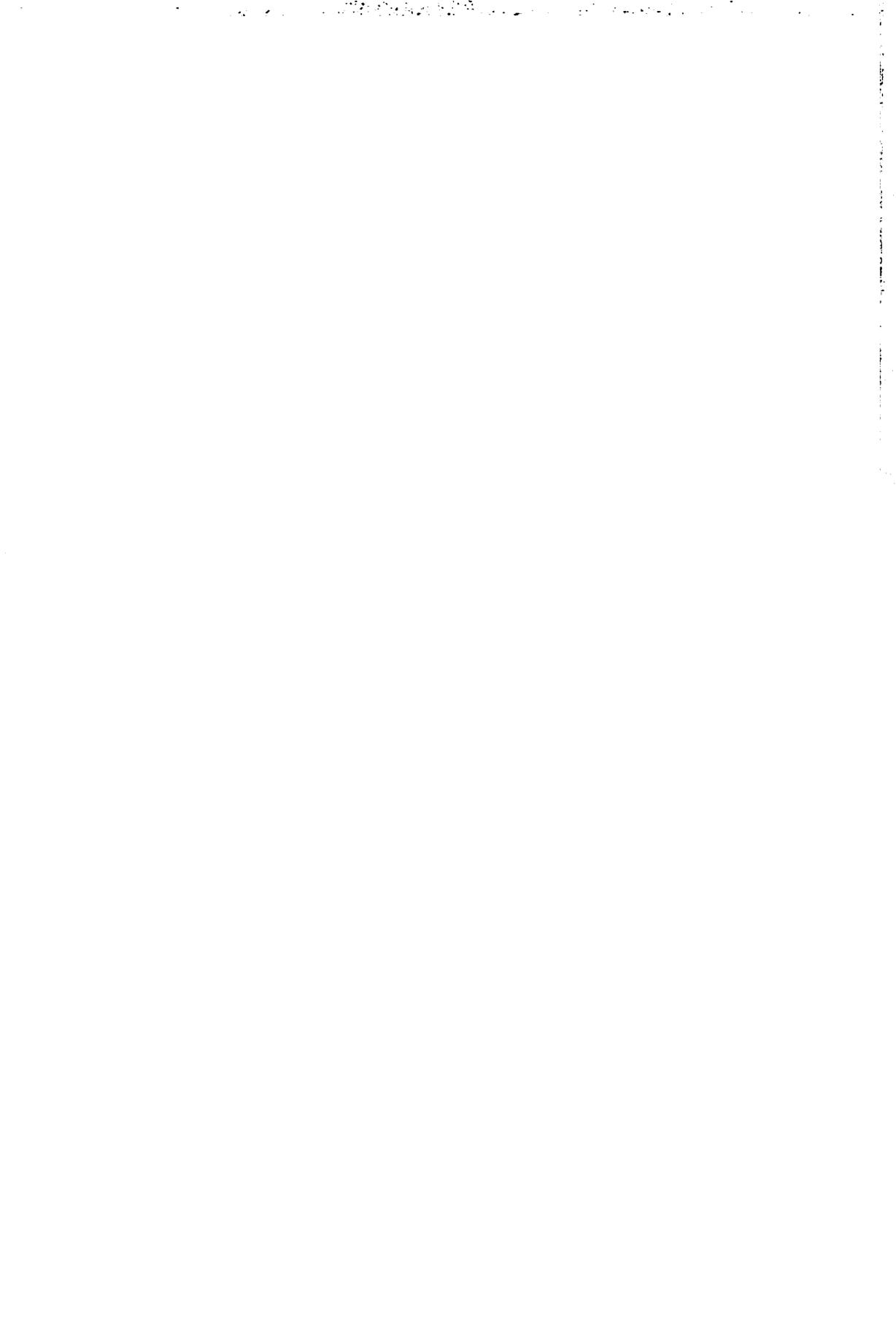
Prof. Dr. João Cândido de Souza

UFLA



Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL



Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos:

*A*cima de tudo à Deus e aos meus pais Diva e Mercer, pois sem o seu apoio e confiança nunca teria chegado até aqui;

*A*os meus irmãos Adriane e João, aos meus avós, às minhas queridas Tias: Vera, M^ªLuiza e Izabel, ao meu tio Raphael e minha prima Danielli;

*A*o querido professor Magno, por toda sua dedicação e preocupação, cujo convívio me proporcionou lições valiosas de vida; e agradeço também pela oportunidade ímpar, de assistir às suas aulas tão bem ministradas e empolgantes;

*A*os professores Cesar, João Bosco e Angela, por todo o apoio, atenção e conhecimento, que me ofereceram durante os meus estudos em Lavras;

*A*o professor Juarez Gabardo, que por causa das suas aulas tão motivantes durante a minha graduação em Curitiba, teve início à grande paixão que hoje sinto, pela ciência fascinante que é a genética;

*A*os professores Edilberto Possamai e Waldo Cavallet, cujo apoio e ensinamentos me foram de valor inestimável;

*A*os meus amigos: Francislei, Vanderlei, Carlos (Black), Hélia, Odair, Max, Eduardo, Eigo, M^ª Cristina, Sidney, Cabeça, Flávia... os quais se tornaram minha verdadeira família durante os 2 anos que estive em Lavras;

*A*s minhas irmãs de coração: Patrícia, Fábria, Juliana e M^ª Luiza....saibam que seu companheirismo e amizade, sempre estarão em minhas lembranças;

*A*os amigos e eternos aliados: Tatiana, Flávio, Maneco, Stella e Gianice;

E à você, meu querido Rodrigo, cujas lições de força e coragem frente aos obstáculos da vida, me fizeram acreditar que nenhum sonho será impossível...desde que o "focus" não seja esquecido!

A Todos Vocês Muito Obrigado!

“Dedico o presente trabalho à uma das pessoas mais importantes em minha vida, meu querido avô Raphael Ferreira Rezende. Também Engenheiro Agrônomo formado pela ESAL na turma de 1947, e que foi ...realmente um exemplo de vida a ser seguido. Pois é Vô ... tentando seguir seus passos ... aqui estou ... terminando a minha pós-graduação na mesma Universidade. Gostaria de aproveitar o momento para agradecer todos os ensinamentos que me transmitiu, mas em especial ... o de saber amar, valorizar e respeitar o bem mais valioso...que sempre será ‘a Terra’ ... pois afinal de contas ... *“é de onde viemos, e, é para onde voltaremos”*. Ao senhor Vô, que me faz tanta falta.....obrigado!”

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Morfologia – biologia floral do milho	3
2.2 Polinização e Fertilização	8
2.2.1 Fase de enchimento do grão	11
2.2.2 O grão de milho e suas partes.....	12
2.2.3 Composição química do grão.....	16
2.3 Fenômeno xênia.....	18
2.3.1 Efeito de pólen na germinação e vigor da semente.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Local	25
3.2 Material utilizado.....	25
3.3 Experimentos realizados	25
3.3.1 Efeito do alopólen na eficiência de fertilização e no peso dos grãos.....	26
3.3.2 Efeito do alopólen na germinação e vigor das sementes.....	28
4 RESULTADOS	31
5 DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

RESUMO

MERCER, Juliane Rezende. Implicações do fenômeno Xênia nos programas de melhoramento de milho. Lavras: UFLA, 2001. 53p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)*

A ocorrência de xênia, isto é, a manifestação do resultado do cruzamento na geração da planta-mãe, há muito, é conhecido. Entretanto, ainda são restritas as informações a respeito da contribuição do pólen estranho no comportamento do milho tropical, especialmente se eles são competitivos, no momento da polinização, e se contribuem para maior peso dos grãos. Na tentativa de responder a tal questionamento, este trabalho foi conduzido na Universidade Federal de Lavras, envolvendo três linhagens de milho branco e três amarelas. Foram realizados cruzamentos segundo um esquema de dialelo parcial, em que as linhagens brancas eram utilizadas como fêmeas, polinizadas por uma mistura de polens provenientes de uma das linhagens amarelas (alopólen) e do próprio pólen (autopólen), participando ambos com mesmo volume. Em média, foram polinizadas 5 plantas por linhagem. Na colheita, as espigas foram divididas em regiões - basal, mediana e superior. Para cada região, os grãos foram separados por coloração - amarelos, provenientes do alopólen, e brancos, do autopólen. Após ter sido feita a contagem, foram pesados, e em seguida, foram avaliados quanto à germinação e vigor, em casa-de-vegetação, obtendo-se, porcentagem de plântulas emergidas e peso seco das mesmas aos 12 dias após semeadura. Constatou-se que houve predominância dos grãos provenientes do alopólen, sendo, em média, 73% dos grãos oriundos dos mesmos, evidenciando, assim, que o pólen estranho é mais competitivo no interior do estigma e estilete. Os resultados evidenciaram que a maior concentração de grãos autofecundados ocorreu na região superior da espiga. O peso médio dos grãos amarelos - provenientes do alopólen - superou em 7,9% o peso médio dos grãos brancos - provenientes do autopólen. Esse maior peso dos grãos amarelos refletiu também em maior porcentagem de germinação e vigor das plântulas. Pelo resultado obtido, permite-se inferir que os efeitos de xênia podem alterar o desempenho de famílias e/ou cultivares nos programas de melhoramento genético, em função da origem do pólen.

* Comitê Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA (Orientador) e Francislei Vitti Raposo - UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

MERCER, Juliane Rezende. Implications of xenia effect on maize breeding programs. Lavras: UFLA, 2001. 53p. (Dissertation - Major in Genetics and Plant Breeding)*

The existence of xenia effect, or the results of crosses in the fruits already on mother plant generation, were first detected for long time ago. Although its base still remains unknown, specially concerned about the effects of pollen's genes on the performance of maize families or cultivars. To reexplore its importance and consequences, the effect of pollen genotype on kernel weight and seedling vigor was studied with three white kernel lines as females and three yellow kernel lines as males. This study was conducted in the Universidade Federal de Lavras (UFLA). Cross-fertilization advantage was studied using a partial diallel design, by mixing pollen from a male (i.e., allopollen) and pollen from a female (i.e., autopolllen), both with about the same volumes. For each cross, 5 female plants taken at random within the same genotype were used per pollination type. At maturity, the ears were harvested individually, then were divided into three zones - top, middle and bottom, by counting the number of white (i.e., self-fertilization) and yellow (i.e., cross-fertilization) kernels on the same ears. Using that procedure, it was possible to study gametes competition. Also the mean grain weight was determined, and then the seedling vigor was evaluated in greenhouse by the percentage of seedling emerged, and its dry weight 12 days after sowing data. These results pointed out to a competitive advantage of allopollen due to the greater proportion of yellow kernels (73%) present at the same ear. Probably that means the higher competitive effect of allopollen into pistil tissues. Also, it was verified that the proportion of selfed grains were higher at the top than at the bottom of the ear. Furthermore, the fertilized kernels had heavier weight (7,9%) than those from selfed. These better performance of crossed grains, were also detected by the advantage observed based on percentage of seeds emerged and seedling vigor. Considering these results we can infer that the xenia effect may modify the performance of families and/or cultivars under evaluation in breeding programs.

* Guidance Committee: Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA (Adviser Professor) and Francislei Vitti Raposo - UFLA (Co-adviser).

1 INTRODUÇÃO

O fenômeno de xênia pode ser considerado como o resultado do cruzamento que se manifesta na própria geração da planta-mãe. No caso do milho, o seu fruto, ou grão, é uma cariopse, cuja formação é o produto de uma dupla fertilização. Em uma delas, um dos núcleos do grão de pólen une-se à oosfera, originando o embrião, e na outra, o outro núcleo do grão de pólen une-se aos dois núcleos polares, dando origem ao endosperma. Portanto, o embrião possui a contribuição genética de $\frac{1}{2}$ dos gametas do genitor feminino e $\frac{1}{2}$ do genitor masculino; já no endosperma, essa contribuição terá $\frac{2}{3}$ do gameta feminino e somente $\frac{1}{3}$ do gameta masculino. Dessa forma, todos os caracteres que se expressam no endosperma, e, no embrião, são passíveis de manifestarem xênia.

O fenômeno xênia foi observado a partir do século XIX por muitos pesquisadores, inclusive Darwin (citado em Bulant e Gallais, 1998). Segundo Denney (1992), tal fenômeno poderia afetar uma série de características, como, por exemplo, o peso de mesocarpo, do endosperma ou do embrião; o formato de fruto, a coloração, a composição química, o período de desenvolvimento, além de muitos outros caracteres. Por essas razões, o efeito de xênia vem despertando grande atenção dos geneticistas atualmente.

Como o endosperma representa a maior parte em volume do grão, este é considerado como sendo o principal responsável pelo peso do mesmo, conseqüentemente, torna-se um dos fatores primários da produtividade. A manifestação do efeito xênia, nos caracteres relacionados ao endosperma e ao embrião, tem sido relatado em várias oportunidades, Davarynijad et al., (1994); Seka, Cross e McClean (1995); Bulant et al., (2000). Trabalhos mostram que o peso médio de grãos provenientes de cruzamento pode superar aos de

autofecundação em até 16% (Kiran e Wicks, 1990, citado em Seka e Cross, 1995). Isso pode ocorrer devido à uma manifestação precoce de heterose. Tal manifestação varia conforme as linhagens e/ou híbridos que participam do cruzamento, sofrendo também grande influência da interação genótipos x ambientes (Weiland, 1992). Esses resultados evidenciam que a manifestação de xênia poderá alterar o desempenho de uma determinada linhagem ou híbrido, dependendo do polinizador utilizado.

Considerando-se que para as cultivares de milho tropicais, até o presente, as informações a respeito do pólen estranho, são restritas especialmente se são mais competitivas no momento da polinização e se contribuem para o maior peso dos grãos, com o presente trabalho, objetivou-se responder a esse questionamento e, suas implicações no trabalho dos melhoristas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Morfologia - biologia floral do milho

O milho (*Zea mays* L. *spp mays*) pertence à família das gramíneas (poaceae), subfamília Panicoideae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *mays*. É diploide, com $2n = 20$ cromossomos, apresentando, portanto, dez pares de cromossomos distintos. A taxa de autofecundação é normalmente inferior a 5% caracterizando-se, assim, em uma espécie alógama, sendo a sua polinização predominantemente realizada pelo vento.

A planta adulta possui um colmo cilíndrico com nós e entrenós compactos. Na região onde os nós estão abaixo do solo, surgem raízes, e naqueles situados ao nível do solo, ou logo acima, originam-se as raízes adventícias, responsáveis tanto pela fixação da planta no solo, bem como pela absorção de nutrientes.

O sistema radicular consta de raízes primárias e secundárias (seminais), além das adventícias. As raízes seminais originam-se da base do primeiro internódio, podendo variar entre 1 a 3 metros de comprimento, embora a maior parte esteja localizada nos primeiros 30 cm de profundidade no interior do solo. A profundidade e a largura do sistema radicular dependem das características do solo, principalmente as que se referem ao teor de umidade, pH, concentração de elementos tóxicos, aeração e grau de compactação.

As folhas dispõem-se de forma alternada no colmo. A bainha de cada folha envolve o entrenó, imediatamente acima ao nó de origem. O limbo foliar é longo, largo e plano, apresentando destacada nervura central, com a ocorrência de pêlos na face superior. Uma outra estrutura foliar importante é a lígula, pois a sua presença limita a entrada de água na região entre o colmo e a bainha.

O milho é uma planta monóica, isto é, apresenta os órgãos masculinos e femininos separados, porém na mesma planta. A estrutura que origina o pólen é denominada de pendão ou flecha. Ele ocorre por diferenciação do meristema apical, que inicia poucos dias após a emergência. Durante o crescimento e desenvolvimento da planta, essa estrutura masculina continua o seu desenvolvimento no interior do colmo, até o momento em que o pendão surge na extremidade da planta, considerado como o início do florescimento.

A inflorescência masculina é do tipo panícula, pois consiste num eixo central, denominado ráquis, do qual surgem ramificações laterais (Figura 1). De cada ramificação lateral ou secundária, podem surgir novas ramificações, denominadas terciárias. Ao longo das ramificações, estão localizadas as espiguetas dispostas aos pares, sendo uma sésbil e a outra pedunculada. Os pares de espiguetas estão arranjados alternadamente.



FIGURA1. Inflorescência masculina (pendão ou flecha) e grão de pólen.

Os grãos de pólen são produzidos a partir de células especializadas existentes no pendão, denominadas de microsporócitos. Esses microsporócitos surgem a partir de inúmeras divisões mitóticas, da célula-mãe do grão de pólen. Esses microsporócitos irão sofrer divisão meiótica, para dar origem aos microsporos. Detalhes sobre a divisão meiótica não serão apresentados aqui, mas podem ser encontrados em vários livros textos (Ramalho, Santos e Pinto, 1989 e Viana et al., 1999). Contudo, é preciso enfatizar que após a primeira divisão meiótica, são produzidas duas células e, após a segunda, quatro células chamadas de microspóros, tendo cada uma delas a metade do número de cromossomos característico da espécie.

Esses microspóros estão localizados no interior das anteras, os quais darão origem por diferenciação aos grãos de pólen (Figura 1). Em realidade, essa etapa envolve duas divisões mitóticas. Na primeira, são produzidos dois núcleos sem a separação das células, sendo um deles o núcleo vegetativo e o outro o generativo. A segunda divisão envolve apenas o núcleo generativo, dando origem a dois novos núcleos, generativos ou espermáticos. Assim, a estrutura formada será uma célula especializada constituída de três núcleos, um vegetativo e dois generativos. O esquema das etapas envolvidas na produção do grão de pólen é apresentado na figura 2 (Chang e Neuffer, 1992).

Na ocasião da antese, após a abertura das espiguetas, as anteras sofrem ruptura de uma de suas extremidades a fim de permitir a saída dos grãos de pólen. É importante salientar que em um pendão existem milhares de anteras, e cada antera produz em média 400 grãos de pólen. Inere-se, conseqüentemente, que cada planta seja capaz de produzir milhões de grãos de pólen, ou seja, quantidade várias vezes superior à necessária, o que possibilita uma enorme eficiência do processo de polinização (Viana et al., 1999). Os grãos de pólen são transportados pelo vento, possibilitando a polinização cruzada.

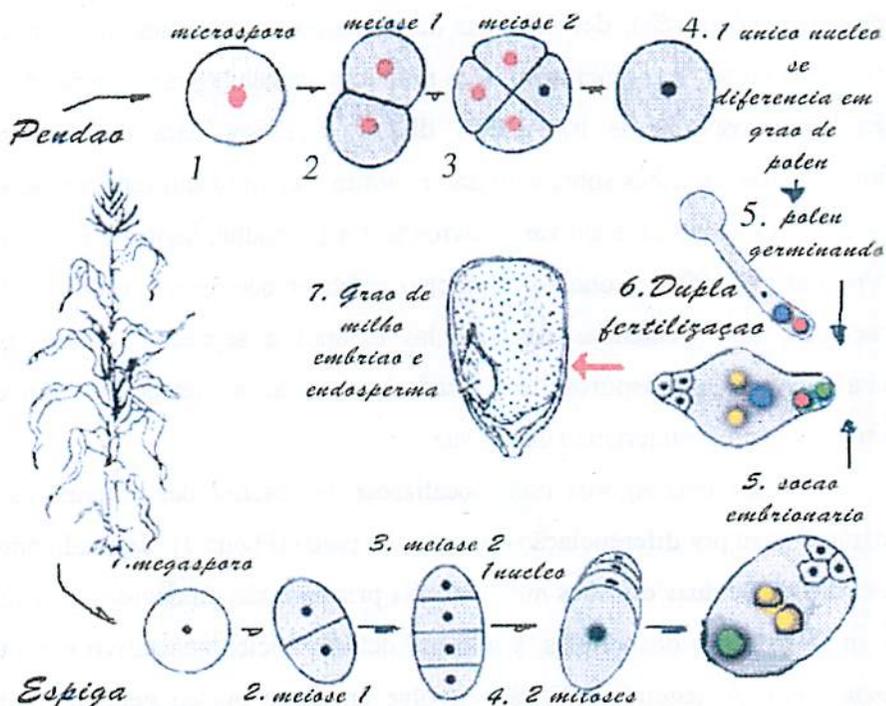


FIGURA 2. Esquema das sucessivas etapas, de formação dos gametas masculinos e femininos de uma planta de milho, bem como da fertilização e formação do grão e seus componentes. Adaptado de Chang e Neuffer, 1992.

A inflorescência feminina é denominada de espiga (Figura 3). Ela ocorre por diferenciação das gemas existentes nas axilas foliares do colmo. A espiga é constituída das palhas, sabugo e flores femininas propriamente dita. A palha é uma bainha foliar originada de um único nó, e à medida que essas surgem, uma se sobrepõe em relação à outra, envolvendo firmemente a inflorescência (Viana et al., 1999). A espiga corresponde a um colmo com entrenós muito próximos. As espiguetas, flores femininas ou gineceu dispõem-se aos pares, formando uma espiral em torno do sabugo, com um alinhamento em fileiras longitudinais, o que faz com que o número de fileiras de grãos presentes na espiga normalmente seja um número par. Logo, na espiga ocorrem algumas centenas de flores

femininas dispostas em fileiras duplas, que são as espiguetas. Desconsiderando o milho tunicata, as glumas envolvem parcialmente as espiguetas. A flor, em que os estames e as lodículas abortaram, é parcialmente envolvida pela lema e pela pálea, apresentando um pistilo funcional com ovário basal único e estilo longo. Cada flor tem na sua constituição um ovário ou megasporângio situado na parte basal do estilete e estigma. O estilete é um filamento de conexão entre o estigma e o ovário (Figura 3). O conjunto formado pelo estilo e estigma é denominado de cabelo ou barba da espiga (Dumas e Mongensen, 1993).



FIGURA 3. Inflorescência feminina e tecidos do óvulo.

Os estilos e estigmas tornam-se receptivos logo após sua emergência, permanecendo assim cerca de 14 dias, dependendo das condições climáticas. Usualmente, apenas a flor superior de cada espiguetta é funcional, pois a inferior geralmente encontra-se atrofiada. O estigma é um tecido glandular, cuja secreção estimula a germinação do grão de pólen e este, por sua vez, estimula as sucessivas divisões mitóticas da célula vegetativa, desenvolvendo progressivamente o tubo polínico no interior do estilete. O estilo-estigma tem tamanho variável, podendo atingir até 45 cm de comprimento.

Como mencionado anteriormente, o ovário situa-se na parte basal da flor, onde está aderido ao sabugo. Ele é constituído da parede do ovário e do óvulo. O óvulo, por sua vez, tem na sua constituição o funículo, integumentos, micrópila, nucela e saco embrionário (Figura 3). E dessas estruturas, o saco embrionário é o de maior relevância no momento.

O saco embrionário origina-se a partir da célula-mãe, denominada megasporócito. Esta sofre a primeira divisão meiótica, dando origem a duas células: uma delas irá se degenerar formando o corpúsculo polar e a outra formará o megasporócito primário. Após a segunda divisão, serão produzidas quatro células com metade do número de cromossomos, mas apenas uma delas será viável, pois as outras três células irão se degenerar. A célula viável é denominada megásporo, que irá sofrer três endomitoses, isto é, três divisões mitóticas, sem a ocorrência da citocinese, sendo obtido, no final, uma célula com oito núcleos (Figura 3). Um dos três núcleos da região micropilar (situados próximos à abertura do óvulo) cresce e se torna o núcleo da oosfera, enquanto os outros se transformam nas sinérgides (Ramalho, Santos e Pinto, 1989).

O saco embrionário passa à crescer sem outras divisões celulares, e torna-se pronto para a fertilização, isto é, torna-se maduro. Nas proximidades do centro encontram-se dois núcleos polares; na outra extremidade, um grupo de três antípodas, muitas das quais possuem mais de um núcleo (Figura 3). Neste

estágio, o saco embrionário permanece aguardando a fertilização, provavelmente por um período de duas semanas.

2.2 Polinização e fertilização

Quando aparecem a inflorescência masculina e/ou feminina, diz-se que terminou a fase vegetativa e inicia-se, então, a fase reprodutiva. A duração da fase vegetativa é variável entre as cultivares, mas também sofre forte influência de fatores ambientais, especialmente da temperatura (Viana et al., 1999). De um modo geral, as fases envolvidas com o florescimento, bem como dos outros estádios de desenvolvimento da cultura, têm a duração apresentada na tabela 1.

Após o aparecimento das inflorescências, irá ocorrer a polinização e a fertilização. A polinização ocorre quando os grãos de pólen desprendem-se das anteras e são levados pelo vento até o estigma-estilete de outra planta. Vale salientar que a deiscência e dispersão do pólen usualmente ocorrem 2 a 3 dias antes da emergência do estilo-estigma, ou seja, ocorrência do fenômeno, da protândria. A natureza protândrica do milho favorece a polinização cruzada; contudo, alguma autofecundação ocorre desde que haja um período de coincidência da emergência do pólen, com a receptividade da barba. A liberação do pólen pode começar desde o nascer do sol até o meio-dia, dependendo da temperatura e da umidade, e usualmente se completa com 4 a 5 horas. Sob condições extremamente favoráveis, o pólen é capaz de funcionar por um máximo de 24 horas; e o clima quente e seco causa uma redução na sua viabilidade. A dispersão do pólen ocorre de 2 a 14 dias, porém, mais freqüentemente de 5 a 8 dias, com um máximo no terceiro dia (Viana et al., 1999).

TABELA 1. Estádios de desenvolvimento de uma planta de milho. (Adaptado de Paterniani e Viegas, citado em Malavolta e Dantas, 1987).

Semanas após sementeira	Estádios de desenvolvimento
1	• Germinação; e emergência;
3	• Surgimento das raízes primárias; • Possui de 5 a 6 folhas não desenroladas;
4	• Surgimento das raízes nodais; • Inicia o desenvolvimento da inflorescência masculina;
5	• Início da formação da espiga;
6	• Possui entre 85% folhas formadas e desenroladas; • Entre 3 a 4 folhas mais velhas, cessam o funcionamento;
8	• Emergência da inflorescência masculina;
8,5	• Aparecimento do cabelo;
12	• Cessa crescimento vegetativo; • Inicia-se o crescimento da espiga; • Início de acúmulo do amido;
16	• Processo de maturação; • Cessa acumulação de matéria seca.

As espigas estão receptivas aos polens, quando aparecem o estilo-estigma - barba - na sua superfície. Normalmente, no interior da espiga, a barba é incolor; entretanto, quando ela fica exposta ao sol, ela se torna avermelhada devido a um acúmulo de antocianina. Como já mencionado, há um estilo-estigma para cada flor, e no momento em que este é polinizado, dará origem a um grão. É importante mencionar que os estilos da base da espiga emergem antes dos estilos centrais, bem como dos localizados na extremidade da mesma. Estes emergem, por um período de 3 a 5 dias, e estão receptivos imediatamente após a emergência, permanecendo nessa condição, por até 14 dias.

A parte exposta do estigma, por longos períodos ao sol, desseca e perde a capacidade de fixação do grão de pólen. Contudo, como o crescimento do

estilo-estigma é contínuo, as partes ainda túrgidas possibilitam que ocorra a fixação dos grãos de pólen.

A partir do momento que o pólen cai no estigma, ele é aderido aos pêlos do estigma e à substância viscosa existente. Em seguida, penetra no interior do estigma, atingindo o estilete, percorrendo, então, toda sua extensão até atingir a micrópila, no óvulo. Durante esse processo, o tubo polínico cresce, estando os dois núcleos generativos na sua extremidade. É oportuno salientar que os grãos de pólen, ao caírem sob o estilo-estigma, são supridos por substâncias produzidas nessa estrutura, possibilitando, assim, a emissão do tubo polínico. Toda a informação necessária ao seu crescimento é proveniente do núcleo vegetativo, e este cresce então em sentido ao óvulo.

Quando o tubo polínico atinge a micrópila, continua o seu crescimento até penetrar no saco embrionário; então, a sua extremidade é rompida para liberar as duas células, generativas ou espermiáticas. Uma delas funde-se à oosfera para formar o zigoto e, deste modo, restaurar o número diplóide de cromossomos próprio das células somáticas da espécie, ou seja, vinte. A outra célula espermiática funde-se a um tecido formado a partir da diferenciação dos dois núcleos polares, dando origem a uma estrutura triplóide, que formará o endosperma. Portanto, ocorre uma dupla fertilização, ou seja, uma para formar o zigoto, e a outra, o endosperma. Do exposto, o zigoto que dará origem ao "híbrido" contém 50% da informação dos cromossomos de origem paterna e 50% de origem materna. Já no endosperma, 66,66% dos cromossomos são de origem materna e 33,33%, paterna (Veit et al., 1993).

2.2.1 Fase de enchimento do grão

Após a fertilização, inicia-se a fase de enchimento de grãos. A formação do endosperma ocorre mais cedo e com mais rapidez, em relação à do embrião.

O zigoto, antes de se transformar em embrião, sofre divisões celulares e um processo de diferenciação, transformando-se a princípio num pré-embrião, com forma e características próprias da espécie. Esse continua seu crescimento e desenvolvimento até a maturação completa da semente.

A formação do endosperma vem despertando a atenção de inúmeros pesquisadores, há vários anos. Os estudos têm sido realizados não só por meio anatômicos, como também utilizando marcadores genéticos, ou seja, alelos mutantes que afetam características associadas ao endosperma. Uma revisão detalhada sobre esse assunto é apresentada por Lopes e Larkins, 1993. Alguns aspectos dessa revisão serão apresentados a seguir.

Logo após a dupla fertilização, a estrutura celular formada na fusão dos três núcleos primários do endosperma sofre inúmeros ciclos de divisão, ampliando o número de núcleos livres, sem citocinese. Esse processo ocorre na região periférica da célula original (óvulo). Posteriormente ocorre a citocinese, então eles migram por meio de um grande vacúolo central para diferentes regiões, até que o endosperma passe a ser constituído de inúmeras células mononucleares (Lopes e Larkins, 1993; Guimarães, 1997).

Um fato interessante é que entre 10 a 20 dias após a polinização ocorre um expressivo aumento na quantidade de DNA do endosperma, passando de 3C até casos com 690C. Essa quantidade, na realidade, é variável em função da linhagem avaliada. A razão do aumento na quantidade de DNA das células do endosperma não é bem conhecida. Uma das hipóteses seria que esse processo possibilitaria o armazenamento de nucleotídeos, visando a atender a demanda dos "seedlings" em desenvolvimento. Também essa amplificação poderia ser uma estratégia em aumentar os produtos resultantes da expressão dos genes envolvidos na biossíntese de enzimas, promovendo, assim, aumento na produção de proteínas de reserva e de carboidratos, com um reflexo direto, não só no vigor

das sementes, como também, na produtividade de grãos por planta ou por área (Lopes e Larkins, 1993).

Essa fase é muito dependente das condições ambientais, e a sua duração varia de acordo com a cultivar, mas em média dura 50 dias. Durante esse período, o ovário aumenta o seu peso em mais de 1400 vezes, provavelmente por estar ocorrendo uma intensa atividade metabólica e divisão celular. O acúmulo de matéria seca só termina quando surge a "camada de abscisão" ou "camada preta", caracterizando que o grão se encontra completamente formado, ou seja, atingiu a sua maturação fisiológica (Popinigis, 1985).

2.2.2 O grão de milho e suas partes

O grão do milho é fruto de uma semente denominado cariopse. A sua constituição típica é mostrada na figura 4. A extremidade do grão, chamada de pedúnculo, é parte remanescente do tecido que conecta o grão ao sabugo, o que permite uma rápida absorção de umidade (Felker e Shannon, 1980). No interior do grão estão os produtos da fertilização, isto é, o embrião e o endosperma.

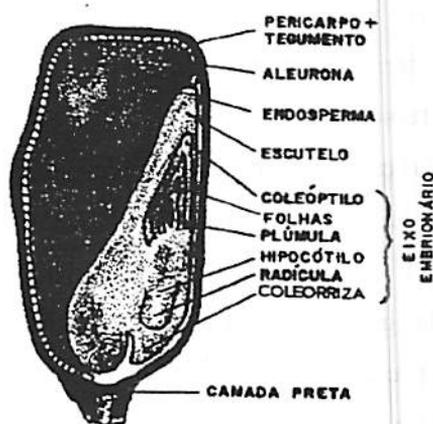


FIGURA 4. Diagrama da seção longitudinal da semente de milho, mostrando suas estruturas.

Juntamente com a formação do embrião e do endosperma, se dá o crescimento das paredes do ovário que revestirão a semente (pericarpo), e o pericarpo corresponde a cerca de 5% do peso final do grão.

O pericarpo se origina da parede do ovário, e portanto é tecido materno, independentemente da fertilização. As funções da cobertura externa são: manter unidas as partes internas da semente, proteger as partes internas contra choques e abrasões, servir como barreira à entrada de microorganismos, regular a velocidade de rehidratação da semente, evitar ou diminuir possíveis danos causados pelas pressões desenvolvidas durante a embebição, regular a velocidade das trocas gasosas (oxigênio e gás carbônico) e regular a germinação.

A camada de aleurona é considerada parte integrante do endosperma. Em cereais, ela é composta por uma ou mais camadas de células que circundam o endosperma amídico (tecido que representa mais de 80% do peso total do grão), exceto na área adjacente ao embrião. A aleurona tem a maior concentração de proteínas solúveis do que o restante do endosperma. Essa camada tem sido um dos melhores sistemas para estudar a regulação da biossíntese de antocianinas. As células da aleurona freqüentemente contêm um grande número de grânulos protéicos, corpos oleosos (ou esferossomas) e pigmentos de antocianina. As antocianinas são compostos fenólicos (flavonóides) derivados a partir de aminoácidos como, fenilalanina e tirosina (Jayaram e Peterson, 1992).

A coloração dos grãos de milho depende da cor do pericarpo, da camada de aleurona e da cor do endosperma, podendo variar entre branca, amarela, vermelha, roxa, riscada, pintada em várias tonalidades; sendo esse caráter (coloração) de grande importância comercial. No entanto, a coloração do endosperma só será visível quando as duas camadas que o recobrem (pericarpo e aleurona) forem translúcidas e incolores. Evidentemente, a coloração da aleurona também só é detectável se o pericarpo for incolor. O gene *Y* é

responsável pela cor do endosperma, o seu alelo dominante (*Y*) condiciona a cor amarela dos grãos e o alelo recessivo (*y*), cor branca. Dessa forma, no endosperma poderão ocorrer 4 diferentes constituições genotípicas, dependendo da dosagem de alelos do gene *Y* (Tabela 2). Quando o endosperma possuir *yyy*, esse terá coloração branca, mas quando possuir os outros três tipos de dosagens alélicas, poderá apresentar uma intensificação da cor amarela, variando na direção da cor alaranjada, dependendo do aumento do número de alelos *Y*. É importante salientar que esse gene tem, ao que tudo indica, efeito pleiotrópico nos teores de vitamina A, xantofila e carotenos, como realçam os dados da tabela 2 (Bandel, 1987, citado em Paterniani e Viegas, citado em Malavolta e Dantas, 1987).

No milho e em outros cereais, a camada de aleurona do endosperma continua viável após o dessecação da semente. Como o endosperma acumula uma grande quantidade de tecidos de reserva, isso faz com que o mesmo no momento da maturação do grão não consiga mais realizar suas atividades fisiológicas, pois este se torna incapaz de sintetizar enzimas. Logo, considera-se o endosperma como sendo um tecido morto (De Mason, Sexton e Grant Reid, 1983), já a camada de aleurona seria a parte viva do grão maduro, pelo fato de ela diferenciar-se em um tecido digestivo especializado na secreção das enzimas mobilizadoras de reservas do endosperma durante a fase de germinação. Sabe-se que a aleurona inicia essa atividade quando na presença de ácido giberélico, secretado pelo embrião durante a sua germinação (McCarty e Carson, 1991).

O embrião corresponde em média a 10% do peso total do grão, e como já foi mencionado, é proveniente do crescimento e diferenciação do zigoto. No embrião, encontram-se as estruturas que originarão uma nova planta que serão ativadas no momento em que a semente for colocada sob condições favoráveis à sua germinação, para, em seguida, emergir à superfície do solo.

TABELA 2. Efeito dos alelos *Y* no teor de vitamina A, xantofilas, carotenos e coloração, nos grãos de milho. (Adaptado por Paterniani e Viegas, citado em Malavolta e Dantas, 1987).

Genótipo	Coloração	Unidades de Vit.A/ g	Xantofilas (ppm)	Carotenos (ppm)
<i>yyy</i>	Branca	0,05	0,4	0,2
<i>Yyy</i>	Amarela	2,25	6,5	2,5
<i>YYy</i>	amarela-laranja	5,00	18,2	4,0
<i>YYY</i>	Laranja	7,50	45,7	4,7

O embrião das monocotiledôneas (Figura 4) é constituído essencialmente por um eixo embionário e pelo cotilédone. O eixo embrionário contém as seguintes estruturas: na extremidade superior, encontra-se a plúmula ou epicótilo, que originarão as primeiras folhas, estando a plúmula envolta por uma bainha proterora chamada de coleóptilo; na extremidade inferior, encontra-se a radícula da qual serão originadas as raízes, estando esta envolta por uma bainha chamada de coleorriza. No cotilédone (escutelo ou escudete), uma de suas faces permanece em contato com o endosperma, mas na face oposta, pode ou não estar presente uma pequena protuberância chamada de epiblasto, considerado como um rudimento do segundo cotilédone.

2.2.3 Composição química do grão

A composição química do milho varia de acordo com a cultivar e com as condições ambientais. Os dados da composição média dos componentes que formam o grão estão apresentados na tabela 3. Observe que a predominância é de amido, representando mais de 70% do total dos componentes químicos dos grãos, concentrando-se predominantemente no endosperma. Já a proteína é o

segundo constituinte com mais de 10%, estando a maior parte concentrada no embrião. Os lipídeos perfazem menos de 5% do peso total, e os açúcares, cerca de 2% (Coelho, 1997).

Durante a maturação, o amido é depositado nos amiloplastos comumente chamados de "grãos de amido", que poderão assumir diferentes configurações. O amido é composto por 2 polímeros de α -glucon, amilose e amilopectina, empacotados na forma de grânulos cristalinos dentro dos amiloplastos. Em média, a concentração de amilose é de 25%, e de amilopectina, 75%, podendo variar em função da constituição genética. A amilose é retilínea, possuindo cerca de 200 a 1000 moléculas de glicose unidas linearmente por ligações α -1,4 sem ramificações. A amilopectina apresenta-se ramificada e pode conter aproximadamente 40.000 unidades de glicose unidas por ligações α -1,4 e α -1,6, o que lhes confere essa configuração ramificada.

TABELA 3. Composição química média do grão maduro de milho e de seus componentes (Adaptado por Paterniani e Viegas, citado em Malavolta e Dantas, 1987).

Componentes do grão	Grão (%)	Amido (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Açúcares (%)	Cinza (%)
Grão inteiro	-	71,5	10,3	4,8	2,0	1,4
Endosperma	82,3	86,4	9,4	0,8	0,6	0,3
Embrião	11,5	8,2	18,8	34,5	10,8	10,1
Pericarpo	5,3	7,3	3,7	1,0	0,3	0,8
Ponta	0,8	5,3	9,1	3,8	1,6	1,6

A biossíntese do amido inicia-se quando a sucrose é transportada até o endosperma em desenvolvimento, onde é convertida em glucose-1-phosphato, para ser incorporada à ADP-Glucose, formando, assim, o principal substrato à síntese do amido. Logo após, iniciam-se as atividades das enzimas “amido-sintetase” e das “enzimas poliméricas”, atuando sobre a glucose, que é então polimerizada por intermédio de um primer em amilose e amilopectina (Hannah, Giroux e Boyer, 1993).

As proteínas do milho são classificadas de acordo com sua solubilidade em albuminas (solúveis em água), globulinas (solúveis em solução de cloreto de sódio), prolaminas (solúveis em etanol, à 80%) e gluteínas (solúveis em hidróxido de sódio). As proteínas de reserva, ou zeínas, não possuem atividade enzimática, sendo fonte de aminoácidos e energia para o embrião e para a plântula em desenvolvimento, são ricas em prolina e glutamina, sendo deficientes nos aminoácidos lisina e triptofano. As proteínas que não possuem função de reserva são denominadas não-zeínas e possuem funções estruturais e enzimáticas, as quais são encontradas no embrião, possuindo elevado valor biológico (Habben, Kirleis e Larkins, 1993).

Os principais ácidos graxos encontrados na semente do milho estão representados pelo ácido palmítico (12%), esteárico (2%), oléico (27%), linoléico (59%), linolênico (0,8%) e β -caroteno. A enorme diversidade da composição da cultura do milho tem possibilitado que o mesmo seja empregado nos mais diversificados setores industriais, em especial nos de alimentação animal e humana (Troyer e Mascia, 1999).

Variação marcante é observada na dureza dos grãos, devido à composição química e estrutura física, em especial do endosperma. Os grãos podem ser mole ou dentado, duro ou "flint", farináceo, doce, ceroso, pipoca, entre outros. Muitos estudos foram e estão sendo realizados, visando a caracterizar melhor genética e bioquimicamente os tipos de grãos de milho

existentes, principalmente em função da crescente exigência imposta pelo mercado consumidor (Guimarães, 1997).

Não só o genótipo influencia o enchimento dos grãos, como também os fatores ambientais, como por exemplo a região em que o grão se encontra na espiga. Strumme, Hanft e Jones, (1984) evidenciaram que a quantidade de fotoassimilados disponíveis para os grãos da região basal é superior, e esse nível vai decrescendo para as regiões intermediária e da ponta. Na tentativa de desvendar a razão pela qual os grãos da região apical apresentam um tamanho reduzido em comparação aos da região basal, conclui-se que vários eram os fatores, entre eles o acúmulo de matéria seca, que por sua vez é função da duração do período de enchimento de grãos e da taxa de acúmulo de amido.

2.3 Fenômeno xênia

Este fenômeno tem grande importância, pois possibilita verificar o produto do cruzamento imediatamente, ganhando-se assim uma geração. O efeito de xênia despertou a atenção dos pesquisadores há muito tempo, pois existem relatos de sua ocorrência em trabalhos realizados ainda no século XIX por Focke e Darwin (citado por Bulant e Gallais, 1998).

O conceito de xênia é bastante controverso. Uma ampla revisão sobre esse assunto é apresentada por Denney (1992), em que discutiram-se os vários conceitos apresentados na literatura desde o seu surgimento, buscando diferenciá-los da expressão "metaxenia". A partir do que foi proposto nesse referencial, o termo xênia será utilizado como sendo o efeito do pólen sobre o endosperma e embrião, fazendo com que o resultado do cruzamento entre duas

plantas seja manifestado durante o decorrer da geração do genitor utilizado como fêmea, ou seja, na geração da planta-mãe.

Um dos primeiros trabalhos mais detalhados a respeito do efeito de xênia foi realizado por Kiesselbach (1926), no qual realizou-se o cruzamento entre milho doce e milho normal dentado. O aumento em produtividade foi de 35% em relação ao cruzamento doce x doce. Esse resultado, embora importante, deve ser observado com ressalva, pois envolveu o alelo *sugary-2*, que reduz drasticamente a quantidade de amido, levando em consideração que esse alelo é recessivo; então, no heterozigoto, a quantidade de amido seria semelhante ao do milho normal.

Para verificar a possível existência do efeito de xênia no peso da espiga, Seka, Cross e McClean, (1995) utilizaram híbridos simples, que diferiam em 3 períodos durante o preenchimento de grãos DAP (marcados com os genes de cor de aleurona *R-7j*), recebendo pólen, ora de genótipo de grãos grandes (GG), ora de grãos pequenos (GP), avaliados em 3 diferentes densidades de semeadura e em 3 diferentes níveis de sucrose (nas avaliações *in vitro*). Verificaram que quando o pólen era GG, ocorria aumento de 34,6% na matéria seca acumulada pelos grãos, 42,3% de quantidade de água e 8,3% no peso seco da espiga. Segundo os autores, seria mais uma comprovação da ocorrência de xênia precocemente, em termos de alocação dos recursos, ou seja, eles acreditam que o cruzamento, ou melhor, que os grãos enviam sinais regulatórios constantemente aos tecidos da espiga, logo o efeito desses genes exógenos ou genes provenientes do alopólen e não só da planta-mãe, poderiam interferir na capacidade da espiga em absorção de fotoassimilados (Tabela 4).

TABELA 4. Média de peso seco do grão, teor de umidade e peso seco da espiga de acordo com o genótipo do pólen e dias após a polinização (DAP). Adaptado: Seka, Cross e McClean, 1995.

DAP	Pólen	Peso do grão	Peso da espiga	Água/grão
		<i>mg</i>		<i>g H₂O/Kg</i>
7	GG	22	92	105
	GP	17	74	81
	LSD(0,05)	3	8	10
14	GG	48	104	150
	GP	31	102	95
	LSD(0,05)	3	8	10
21	GG	65	111	161
	GP	51	106	117
	LSD(0,05)	3	8	10

Mais recentemente Bulant, em 1996 (citado em Bulant e Gallais, 1998), realizou experimentos visando a verificar a vantagem relativa do cruzamento. Esses experimentos constavam de linhagens e de híbridos simples (HS) com grãos brancos, que recebiam uma mistura de pólen de linhagens amarelas (alopólen), em igual proporção com seu próprio pólen (autopólen). Observaram que a vantagem da polinização cruzada proporcionou um aumento de 13% no experimento de 1993, 11% em 1994 e 11,5 % em 1995, em relação à autofecundação. Demonstraram, dessa forma, que apesar da grande interação genótipo x ano, havia uma boa repetibilidade desse fenômeno de xênia, com uma significativa correlação entre os anos. Mas quando as fêmeas utilizadas eram os HS, esse aumento em peso seco reduzia-se aproximadamente em 50%, o que seria esperado, visto que os HS no momento em que são autofecundados sofrem uma depressão por endogamia de 50%. Em realidade, somente nas lavouras comerciais da geração F₁ a parte vegetativa das plantas estaria expressando o máximo da heterose, ao passo que os grãos, que representariam a geração F₂, estariam sendo prejudicados devido à ocorrência esperada de 50% de coeficiente de endogamia. Esse fato poderia ser contornado pela recomendação

de uma mistura de dois HS, com excelente capacidade específica de combinação.

Comparando híbridos provenientes de dois genitores para o metabolismo do amido, aos 20 e 50 dias após a polinização, Doehlert e Lambert (1991) verificaram que, na maturidade, o híbrido excedeu seus genitores em peso de endosperma e de embrião. Contudo, não foi observada diferença em nível de sucrose, quantidade de amido ou nas enzimas-chave no metabolismo do amido durante o período de enchimento de grãos.

A maior atividade enzimática contribui para a associação positiva entre os grãos na maturidade e o número de células do endosperma e grânulos de amido do grão (Wang, 1947; Groszmann e Sprague, 1948 e Bulant et al., 2000). Segundo Reddy e Daynard (1983), a superioridade observada, na maturidade no peso dos grãos híbridos, pode ser atribuída a maior eficiência genético-fisiológica do endosperma híbrido, contribuindo para maior precocidade no início da divisão celular, aumentando, assim, o potencial desse grão em armazenar uma maior quantidade de reservas.

Os resultados obtidos por Bulant et al. (2000), em relação à atividade enzimática envolvida na acumulação de amido, evidenciaram que nos grãos provenientes de cruzamento em relação aos autofecundados, ela foi superior aos 14 dias após a polinização (DAP), decrescendo acentuadamente até o 28° DAP. Esse fato contribuiu para que a vantagem do cruzamento no peso seco dos grãos fosse maior aos 14°DAP, isto é, em torno de 19%, decaindo gradativamente até 8% com 74°DAP (Tabela 5). E é justamente no período inicial, ou seja, em torno do 14°DAP, o período de máxima atividade enzimática (Bulant et al., 2000).

TABELA 5. Efeito do cruzamento no peso úmido, peso seco e teor de umidade dos grãos, em função do número de dias após a polinização (DAP).

DAP		14	21	28	39	74
Peso verde (mg)	F 497autof.	100,3a [#]	203,7a	260,1a	326,9a	357,2a
	F497 x F252	110,6b	210,7b	275,7b	339,1b	393,7b
	R	10%	3%	5%	4%	5%
Peso seco (mg)	F497 autof.	14,7a	58,1a	96,3 ^a	162,0a	250,0a
	F497 x F252	17,6b	63,1b	106,2b	171,8b	271,7b
	R*	19%	8%	10%	11%	8%
Teor água	F497 autof.	854a	714a	627a	502a	292a
	F497 x F252	841b	700b	613a	490a	301b

[#]/: médias seguidas de letra diferente, na vertical, diferem significativamente ao nível de 5% ; ^{*}/: vantagem do cruzamento em relação à autofecundação; F497/: linhagem branca - fêmea; F252/: linhagem amarela precoce de grãos tipo dente - macho. Adaptado: Bulant et al., (2000).

Outro resultado interessante é que as espigas que receberam a mistura de polens (auto e alopólen) tiveram nos grãos brancos (provenientes do autopólen) um efeito de estimulação do preenchimento dos grãos, quando comparados com os grãos das espigas que só haviam sido autofecundadas (Tabela 6). Observa-se que, em média, a fertilização proveniente da mistura de pólen induziu a uma maior uniformidade no peso dos grãos provenientes do alopólen, do que em relação às espigas que só haviam sido polinizadas com 100% de autopólen (Bulant e Gallais, 1998).

Como os lipídeos ocorrem predominantemente no embrião (Tabela 3), também é esperado efeito de xênia para esse caráter. Resultados a esse respeito foram relatados por Curtis, Brunson e Earle, (1956). Inclusive eles sugeriram que quando fosse avaliar cultivares e/ou famílias para o teor de óleo, houvesse um cuidado especial para melhorar o controle da origem do pólen nesse tipo de experimento.

TABELA 6. Peso médio dos grãos (mg) de acordo com o tipo de pólen participante na fertilização recebida pela espiga. Adaptado: Bulant et al., (2000)

Ano	100% autof	½ autopólen e ½ alopólen.			100% cruz.
	Branco	Branco (P _B)	Amarelo (P _A)	(P _B + P _A)/2	Amarelo
1994	219,8(4,8)*	240,9(2,1)	267,0(2,2)	253,9	x
1995	262,4(3,3)	247,6(2,4)	272,1(2,8)	259,8	276,1 (6,2)

*: entre parênteses estão os desvios padrões obtidos.

2.3.1 Efeito de pólen na germinação e vigor da semente

A heterose, termo proposto por Shull em 1909 para explicar os efeitos benéficos da hibridação, isto é, o maior vigor dos híbridos F₁, em relação à média dos pais ou à média do pai mais produtivo. O fenômeno pode-se manifestar em relação a uma série de caracteres (Hageman, Leng e Dudley, 1967 e Fakorede e Agbana, 1983).

Um dos caracteres que ocorre heterose é na germinação e no vigor das sementes (Tafari, 1966, Mino e Inoue, 1980, Mino e Inoue, 1994, Causse, Rocher e Pelleschi, 1995). Em trabalho conduzido na Universidade Federal de Lavras, foi evidenciado que os híbridos apresentaram heterose no teste de germinação e no vigor (Gomes, 1999). Constatou também efeito da capacidade geral e específica de combinação para as características avaliadas e também efeito recíproco.

Procurando explicar a origem da heterose na germinação e vigor das sementes, vários trabalhos foram realizados. Foi constatado, por exemplo, que a mais rápida germinação e crescimento vigoroso das plântulas, estavam associados com a maior atividade metabólica de RNA, proteínas e DNA nos embriões (Mino e Inoue, 1980 e Mino e Inoue, 1994). Verificaram também que no embrião híbrido o metabolismo de proteínas e lipídeos é superior ao das linhagens, favorecendo o crescimento do eixo embrionário e uma maior germinação das sementes (Causse, Rocher e Pelleschi, 1995).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em solo classificado como latossolo vermelho-escuro distrófico, textura argilosa e relevo suavemente ondulado. A cidade de Lavras está situada na região sul do Estado de Minas Gerais, a 910 metros de altitude, 21°45'S de latitude e 45°00'W de longitude.

3.2 Material utilizado

Neste trabalho foram utilizadas seis linhagens, sendo três B203, B204 e B207 de endosperma branco, genótipo *yyy*, grãos de tamanho médio, semiduro e ciclo normal. As outras três, A20, A33 e A47, possuem endosperma amarelo, genótipo *YYY*, com grãos pequenos e duros. Todas as linhagens foram fornecidas pelo programa de melhoramento do CIMMYT.

3.3 Experimentos realizados

Foram conduzidos dois experimentos distintos. No primeiro, para verificar o efeito do pólen estranho (alopólen) na eficiência de fertilização e no peso dos grãos. E no segundo, visando a avaliar o efeito do pólen estranho na germinação e no vigor das sementes.

3.3.1 Efeito do alopólen na eficiência de fertilização e no peso dos grãos

Este experimento foi conduzido sob condições de campo envolvendo as 6 linhagens anteriormente mencionadas. Para isso, procedeu-se à semeadura de cada uma das linhagens, durante o ano agrícola 1999/2000, em linha de 10 metros, espaçadas entre si em 0,90m, com espaçamento entre plantas de 0,25m. O processo foi repetido mais duas vezes para garantir a coincidência de florescimento de todas as linhagens envolvidas.

Foi aplicada uma adubação equivalente a 400 kg/ha de fertilizante 4-14-8 (N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente) na semeadura, e 150 kg/ha de sulfato de amônio em cobertura, 20 dias após a emergência. Quando houve deficiência hídrica, a cultura recebeu irrigação suplementar por aspersão. Quanto aos demais tratos culturais relacionados contra insetos e pragas, esses foram realizados de acordo com a sua necessidade.

Por ocasião do florescimento, foi efetuada a polinização das linhagens fêmeas em todas as combinações possíveis. Para isso, o pólen de uma determinada linhagem amarela (i) foi misturado, em igual volume, ao pólen retirado da linhagem branca (j). A linhagem (j) fêmea foi, então, polinizada com a referida mistura. Desse modo, foram obtidas nove combinações, segundo um esquema fatorial 3x3, e o número de espigas obtidas por cruzamento variou entre 3 a 5 espigas.

Por ocasião da colheita, as espigas de cada combinação foram separadas. Cada espiga foi dividida em três partes: basal, intermediária e superior (ou ponta). Em cada posição, foi contado o número de grãos amarelos – oriundos do alopólen e os de cor branca – autopólen. Os grãos separados por espiga, posição e cor, em seguida; foram pesados em balança eletrônica de precisão.

Foi utilizado o programa estatístico Sisvar nas análises de variância realizadas. Procedeu-se à análise de variância da porcentagem de grãos

amarelos, utilizando o modelo estatístico abaixo, considerando todos os componentes do modelo como fixos, exceto o erro experimental:

$$Y_{ijkl} = \mu + m_i + f_j + (mf)_{ij} + p_k + (pm)_{ki} + (pf)_{kj} + (pmf)_{kij} + e_{ijkl}$$

em que:

Y_{ijkl} : é a observação referente ao macho i, fêmea j, posição k e espiga l;

μ : é a média geral do experimento;

m_i : é o efeito do macho i (i=1, 2 e 3);

f_j : é o efeito da fêmea j (j=1, 2 e 3);

$(mf)_{ij}$: é o efeito da interação do macho i com a fêmea j;

p_k : é o efeito da posição da espiga k (k=1, 2 e 3);

$(pm)_{ki}$: é o efeito da interação da posição k com o macho i;

$(pf)_{kj}$: é o efeito da interação da posição k com a fêmea j;

$(pmf)_{kij}$: é o efeito da interação da posição k, com o macho i, com a fêmea j;

e_{ijkl} : é o erro experimental, sendo $e_{ijkl} \cap (0, \sigma^2)$

No caso do peso dos grãos, como envolveu tanto os brancos quanto os amarelos, na análise de variância, adotou-se o seguinte modelo estatístico,

$$Y_{ijkql} = \mu + m_i + f_j + (mf)_{ij} + p_k + (pm)_{ki} + (pf)_{kj} + (pmf)_{kij} + o_q + (om)_{qi} + (of)_{qj} + (ofm)_{qij} + (op)_{qk} + (opm)_{qki} + (opf)_{qkj} + (opmf)_{qkij} + e_{ijkql}$$

em que,

Y_{ijkql} : é a observação referente ao macho i, fêmea j, posição k, origem q, e, espiga l;

μ : é a média geral do experimento;

m_i : é o efeito do macho i (i = 1, 2 e 3);

f_j : é o efeito da fêmea j (j = 1, 2 e 3);

$(mf)_{ij}$: é o efeito da interação do macho i com a fêmea j ;
 p_k : é o efeito da posição da espiga k ($k = 1, 2$ e 3);
 $(pm)_{ki}$: é o efeito da interação da posição k com o macho i ;
 $(pf)_{kj}$: é o efeito da interação da posição k com a fêmea j ;
 $(pmf)_{kij}$: é o efeito da interação da posição k , com o macho i , com a fêmea j ;
 o_q : é o efeito de origem do pólen q ($q = 1$ e 2);
 $(om)_{qi}$: é o efeito da interação da origem q com o macho i ;
 $(of)_{qj}$: é o efeito da interação da origem q com a fêmea j ;
 $(ofm)_{qji}$: é o efeito da interação da origem q , com o macho i , com a fêmea j ;
 $(op)_{qk}$: é o efeito da interação da origem q , com a posição k ;
 $(opm)_{qki}$: é o efeito da interação da origem q , com a posição k , com o macho i ;
 $(opf)_{qkj}$: é o efeito da interação da origem q , com a posição k , com a fêmea j ;
 $(opmf)_{qkij}$: é o efeito da interação da origem q , com a posição k , com o macho i e com a fêmea j ;
 e_{ijkql} : é o erro experimental.

3.3.2 Efeito do alopólen na germinação e vigor das sementes.

Neste caso, o experimento foi conduzido em casa-de-vegetação utilizando-se sementes colhidas na etapa anterior. Foram avaliados os seguintes tratamentos, além da origem do pólen: linhagens macho e fêmea, posições – basal, mediana e ponta.

A semeadura foi efetuada em bandejas plásticas, com aproximadamente 8 cm de altura, 30 cm de largura e 40 cm de comprimento. Utilizou-se terra peneirada, colocada na bandeja até 2 cm da borda. Em seguida, procedeu-se à semeadura dos tratamentos e, posteriormente, cobriu-se as sementes com a

mesma quantidade de terra. Procurou-se proceder às irrigações utilizando sempre a mesma quantidade de água por bandeja.

Adotou-se o delineamento de blocos casualizados, com 5 repetições, segundo esquema fatorial $2 \times 2 \times 3 \times 3$, ou seja, 2 origens do pólen, 2 linhagens fêmeas, 3 linhagens macho e 3 posições da espiga. Uma das linhagens, a B207, não produziu número suficiente de sementes na espiga, e cada bandeja possuía um total de 5 linhas; logo, cada parcela era constituída por uma linha com 12 sementes.

Para o estudo da germinação e vigor, foram avaliados a porcentagem de germinação (G), pela contagem diária do número de plântulas emergidas nas parcelas, e também o peso seco das plântulas (PS) ao 12 ° dia pós-semeadura. Para avaliação do peso seco, foram coletadas aleatoriamente 3 plântulas em cada linha, as quais foram, em seguida, pesadas, obtendo-se, assim, o peso verde (mg) e, em seguida, o peso seco.

Com os dados do número de plântulas emergidas diariamente, foi estimado o índice de velocidade de emergência (IVG), pela expressão de Edmond e Drapala (1958), ou seja:

$$IVG = \left[\frac{\sum g_i}{\sum g_i d_i} \right]$$

em que,

g_i : representa o número de plântulas emergidas por parcela, que foram contadas no dia i ;

d_i : o número de dias após semeadura, cuja contagem foi realizada no dia i

Procedeu-se à análise da variância dos caracteres percentagem de germinação aos 12 dias, dados transformados para arco seno \sqrt{x} ; índice de velocidade de emergência e peso seco das plântulas, utilizando procedimento semelhante ao apresentado por Pimentel Gomes (1985).

4 RESULTADOS

A análise da variância da porcentagem de grãos provenientes do alopólen é apresentada na tabela 7. Verifica-se que a precisão experimental, avaliada pelo coeficiente de variação (CV) pode ser considerada boa, ou seja, 11,2%. Observou-se que ocorreu diferença significativa ($P \leq 0,01$) entre as fêmeas (linhagens brancas) e entre os machos (linhagens amarelas). Chama atenção também a significância ($P \leq 0,05$) observada para a interação fêmeas x machos, indicando que a porcentagem de grãos provenientes do alopólen não foi consistente entre os machos e fêmeas. Destaque também para a significância ($P \leq 0,05$) da fonte de variação posição de grãos, indicando que a porcentagem de grãos amarelos variou conforme a localização na espiga. Contudo, as interações envolvendo efeito posição na espiga não foram significativas.

TABELA 7. Resumo da análise de variância para o caráter porcentagem de grãos amarelos na espiga.

FV	GL	QM	
Macho	2	2710,92	**
Fêmea	2	6293,50	**
Macho x Fêmea	4	222,20	*
Posição	2	308,13	*
Posição x Macho	4	86,68	
Posição x Fêmea	4	35,33	
Posição x Macho x Fêmea	8	70,19	
Erro	119	67,05	
CV(%)		11,18	
Média Geral		73,27	

** , * : teste de F significativo aos níveis de 1% e 5% de probabilidade.

A porcentagem média de grãos amarelos de 73,3% indica que houve predominância das fertilizações pelo alopólen. Observa-se pela tabela 8 que a porcentagem de fertilização realizada pelo alopólen variou conforme a fêmea, sendo superior na linhagem B207 (87,8%) e inferior na B203 (64,1%). A origem do pólen, como já mencionado, afetou também a fertilização, constando-se que o pólen proveniente da linhagem A47 foi o mais eficiente. Chama atenção a interação fêmea x macho, em que foi observado uma maior porcentagem de polinização cruzada, de 90,1%, entre o par B207 x A20, e uma menor porcentagem, de 53,5%, entre o par B204 x A33.

Com relação à posição dos grãos na espiga, constatou-se que não houve diferença significativa entre a posição basal e intermediária. A posição basal superou o resultado obtido na ponta em 7,1%. Isso indica que a porcentagem de grãos provenientes de autofecundação foi crescente da base para a ponta (Tabela 9).

TABELA 8. Porcentagem média de grãos amarelos obtidos pelas diferentes linhagens utilizadas como fêmeas, polinizadas pelos diferentes machos.

Fêmea	Macho			Médias
	A20	A33	A47	
B203	66,56 b ¹	56,65 b	68,56 c	64,10 c
B204	69,35 b	53,55 b	80,04 b	67,86 b
B207	90,13 a	84,65 a	89,84 a	87,84 a
Médias	75,37 B	64,95 C	79,48 A	73,27

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 9. Porcentagem média de grãos amarelos (GA) e peso médio dos grãos (PG), em miligramas, de acordo com a posição em que o grão se encontrava na espiga.

Posição	GA	PG
Superior	70,54 b	271,42 a ¹
Intermediário	73,75 a	274,87 a
Basal	75,51 a	274,79 a

¹Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

A análise da variância do caráter peso médio dos grãos é apresentada na tabela 10. Embora a precisão experimental fosse relativamente boa (CV = 16,2%), verificou-se que a maioria das fontes de variação foi não-significativa, especialmente nas que estavam envolvidas as interações. Detectou-se diferença significativa apenas em fêmeas e origem ($P \leq 0,01$) e na interação macho x fêmea ($P \leq 0,05$).

Observa-se pela tabela 11 que as linhagens utilizadas como fêmeas, B204 e B207, foram as que apresentaram o maior peso médio dos grãos. Coincidentemente, essas haviam apresentado a maior porcentagem de cruzamentos. Entre as linhagens-macho, não foi detectada diferença pelo teste de F. Contudo, quando se comparam as diferentes fêmeas em combinação com o pólen da linhagem A33, verifica-se que a combinação B203 x A33 foi a de menor peso médio; já a combinação B204 x A33 foi estatisticamente a de maior peso médio de grãos.

Embora não tenha sido detectada diferença no peso médio dos grãos, com relação à posição da espiga, constata-se tendência em maiores pesos nas posições intermediária e basal (tabela 9).

TABELA 10. Resumo da análise de variância para o caráter peso médio dos grãos (PG), em miligramas.

FV	GL	QM
Macho	2	3828,1200
Fêmea	2	22511,1864 **
Macho x Fêmea	4	6476,0246 *
Origem	1	31389,5761 **
Origem x Macho	2	503,6866
Origem x Fêmea	2	1361,6171
Origem x Macho x Fêmea	4	614,8470
Posição	2	378,7359
Posição x Macho	4	151,2739
Posição x Fêmea	4	852,4971
Posição x Macho x Fêmea	8	848,5826
Posição x Origem	2	259,3110
Posição x Origem x Macho	4	56,3272
Posição x Origem x Fêmea	4	306,7750
Posição x Origem x Macho x Fêmea	8	124,4926
Erro	238	1973,9208
CV(%)		16,23
Média Geral		273,69

** , * : teste de F significativo aos níveis de 1% e 5% de probabilidade.

O que mais interessa, entretanto, é o peso médio obtido nos grãos oriundos de autopólen – autofecundados – ou dos alopólen – fecundação cruzada. Observa-se, pela tabela 12, que os grãos que haviam sido fertilizados pelo alopólen apresentaram um peso 7,9% acima dos autofecundados. Em síntese, depreende-se que os grãos amarelos – provenientes dos cruzamentos, foram, em média, os de maior percentagem e também maior peso.

TABELA 11. Peso médio dos grãos, em miligramas, obtido pelas diferentes linhagens utilizadas como fêmeas, quando polinizadas pelos diferentes machos.

Fêmea	Macho			Médias
	A20	A33	A47	
B203	267,50 a ¹	245,88 b	265,63 b	258,86 b
B204	284,00 a	291,10 a	285,07 a	287,02 a
B207	283,89 a	290,82 a	249,34 b	275,19 a
Médias	278,47 A	275,93 A	266,68 A	

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

A análise de variância da porcentagem de germinação (G), indicando o número de dias após a emergência das plântulas (DAE), é apresentada na tabela 13. Verifica-se que apesar de todos os cuidados durante a implantação do experimento, principalmente no que se refere à profundidade de semeadura e irrigação, a precisão experimental deve ser considerada baixa, em função do experimento ter sido conduzido em casa-de-vegetação. Apesar da precisão experimental, a análise de variância indicou um coeficiente de variação de 22,8%. Observa-se a ocorrência de diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os machos e significância ($P \leq 0,01$) para a origem do pólen. Entretanto, para as interações, bem como para os efeitos de fêmeas e de posição na espiga, não foram detectadas diferenças significativas.

TABELA 12. Peso médio dos grãos (PG), em miligramas, de acordo com a origem do pólen.

Origem	PG	%
Autofecundação	263,3260 b ¹	100,00
Cruzamento	284,0623 a	107,87

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

A porcentagem média de plântulas germinadas foi alta, com uma média geral de 86,0%, indicando que a germinação foi boa. Como já mencionado, embora não tenha sido detectada diferença entre as fêmeas, a linhagem B204 foi a que apresentou maior porcentagem de sementes cruzadas e maior peso de grãos, e também teve uma porcentagem média de germinação 3,4% superior à B203. A linhagem macho com maior porcentagem de germinação foi a A33, coincidentemente essa foi uma das linhagens com um tendência ao maior peso médio de grãos (Tabelas 8, 10, 11, 14 e 15).

TABELA 13. Resumo das análises de variância para a porcentagem de germinação (G), dados transformados para $[\arcsen(\sqrt{X_i})]$, peso seco das plântulas em mg/parcela (PS) e índice de velocidade de germinação (IVG) em dias.

FV	GL	G ¹	QM	
			PS	IVG
Bloco	4	0,2950 *	234.500,00 **	8,4745 **
Macho	2	0,3851 *	2.700,00	1,7261
Fêmea	1	0,1283	4.900,00	9,5726 *
Macho x Fêmea	2	0,1632	9.100,00 *	0,9705
Origem	1	0,7685 **	15.500,00 **	0,0716
Origem x Macho	1	0,0057	1.300,00	4,5504
Origem x Fêmea	2	0,0713	100,00	1,0020
Origem x Macho x Fêmea	2	0,2333	6.100,00	3,5051
Posição	2	0,1215	4.000,00	1,5804
Posição x Macho	2	0,1355	7.900,00 **	3,3503
Posição x Fêmea	4	0,1457	6.400,00 *	0,6461
Posição x Macho x Fêmea	4	0,0950	1.500,00	3,5752
Posição x Origem	2	0,1916	800,00	3,7980
Posição x Origem x Macho	2	0,0493	1.800,00	2,4262
Posição x Origem x Fêmea	4	0,1958	3.400,00	3,9255
Pos. x Orig. x Mac. x Fêm.	4	0,0938	8.700,00 **	2,7477
Erro	140	0,0858	2.080,00	1,5056
CV(%)		22,78	24,84	12,25
Média Geral		1,2800	183,60	10,02

** , * : teste de F significativo aos níveis de 1% e 5% de probabilidade.

^{1/} radianos.

TABELA 14. Resultados médios da percentagem de germinação (G) – dados não transformados, peso seco das plântulas, em miligramas (PS) e índice de velocidade de emergência (IVG), em dias; obtidos para as linhagens utilizadas como genitor feminino.

Fêmea	G	%	PS	%	IVG	%
B203	85,09 a ¹	100,00	178,40 a	100,00	9,80 a	104,60
B204	87,96 a	103,37	188,90 a	105,83	10,25b	100,00

¹Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Não se detectou diferença significativa na percentagem de germinação, em função da posição da semente na espiga. Contudo, coerentemente com o que já foi comentado para o peso dos grãos, houve tendência de maior germinação nas sementes situadas nas regiões intermediária e basal (Tabela 16).

Como o que mais interessa no momento é conhecer a influência do efeito da origem do pólen (auto ou alopólen) na percentagem de germinação, a partir dos resultados observados na tabela 17, percebe-se que as médias das plântulas provenientes do alopólen (cruzamento) diferiram estatisticamente das que receberam o autopólen (autofecundadas), superando em 8,1% a percentagem média de germinação das plântulas autofecundadas.

Da mesma forma para o carácter peso seco das plântulas, a precisão experimental foi baixa (CV = 24,8%). Observa-se na tabela 13 que diferença significativa só foi detectada entre origem ($P < 0,01$) e entre as interações, macho x fêmea ($P \leq 0,05$), posição x macho ($P \leq 0,01$), posição x fêmea ($P \leq 0,05$) e posição x origem x macho x fêmea ($P \leq 0,01$).

TABELA 15. Resultados médios da porcentagem de germinação (G) – dados não transformados, peso seco das plântulas, em miligramas (PS) e índice de velocidade de emergência (IVG), em dias, obtidos para as linhagens utilizadas como genitor masculino.

Macho	G	PS	IVG
A20	83,75 b ¹	181,50 a	9,96 a
A33	89,86 a	191,20 a	9,90 a
A47	85,97 b	178,30 a	10,21 a

¹ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott- Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Constatou-se que as plântulas oriundas das sementes cruzadas apresentaram peso seco médio 32% superior às originadas de autofecundação (Tabela 17). Contudo, essa diferença foi influenciada pelos efeitos da posição da semente na espiga, e também das linhagens fêmeas e machos (Tabela 18). A maior vantagem das sementes cruzadas (96,7%) foi obtida quando se consideraram a posição intermediária e o par B204 x A20. Quanto aos resultados dos pares B204 x A47 e B203 x A20, provenientes da posição superior e intermediária da espiga, embora a diferença não fosse significativa, houve tendência de a semente autofecundada dar origem às plântulas com maior desenvolvimento.

TABELA 16. Resultados médios da porcentagem de germinação (G) – dados não transformados, peso seco das plântulas, em miligramas (PS) e índice de velocidade de emergência (IVG), em dias, obtidos de acordo com a posição que o grão ocupava na espiga.

Posição	G	PS	IVG
Superior	83,75a ¹	176,30 a	9,88 a
Intermediária	86,38 a	182,20 a	10,20 a
Basal	89,44 a	192,50 a	9,99 a

¹ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 17. Resultados médios da porcentagem de germinação (G) – dados não transformados, peso seco das plântulas, em miligramas (PS) e índice de velocidade de emergência (IVG), em dias, obtidos de acordo com a origem do pólen.

Origem	G	%	PS	%	IVG	%
Autofecundação	83,14 b ¹	100,00	158,30 b	100,00	10,0401 a	100,40
Cruzamento	89,90 a	108,13	209,00 a	132,03	10,0002 a	100,00

^{1/}Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade

TABELA 18. Resultados médios do peso seco (PS), em gramas das plântulas, de acordo com a origem do pólen (auto ou alopólen), das linhagens brancas (fêmeas), as linhagens amarelas (machos) e também de acordo com a posição em que o grão se encontrava na espiga.

Posição	Fêmeas	Machos	PS			
			Autof.	%	Cruz.	%
Sup.	B203	A20	148,00 b ¹	100,00	208,00 a	140,54
		A33	126,00 b	100,00	202,00 a	160,32
		A47	98,00 b	100,00	174,00 a	177,55
	B204	A20	166,00 b	100,00	242,00 a	145,78
		A33	186,00 b	100,00	250,00 a	134,41
		A47	170,00 a	116,44	146,00 a	100,00
Interm.	B203	A20	178,00 a	114,10	156,00 a	100,00
		A33	130,00 b	100,00	222,00 a	170,77
		A47	170,00 b	100,00	232,00 a	136,46
	B204	A20	122,00 b	100,00	240,00 a	196,72
		A33	202,00 a	100,00	214,00 a	105,94
		A47	126,00 b	100,00	194,00 a	153,97
Basal	B203	A20	152,00 a	100,00	190,00 a	125,00
		A33	178,00 a	100,00	200,00 a	112,36
		A47	204,00 a	100,00	244,00 a	119,61
	B204	A20	178,00 a	100,00	198,00 a	111,24
		A33	142,00 b	100,00	242,00 a	170,42
		A47	174,00 a	100,00	208,00 a	119,54

^{1/}Médias seguidas pela mesma letra na horizontal para cada origem, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao índice de velocidade de emergência (IVG), apenas a fonte de variação fêmea foi significativa ($P \leq 0,05$). Nesse caso, observou-se que a linhagem B203 apresentou maior velocidade de emergência, muito embora a diferença tenha sido de pequena magnitude, ou seja, de apenas 4,6% (Tabelas 13 e 14).

5 DISCUSSÃO

No estudo da ocorrência do efeito de xênia, para caracteres quantitativos, é necessária a utilização de algum marcador para se ter certeza de que a semente tem origem híbrida. Há várias opções de genes marcadores, sendo os mais utilizados aqueles envolvidos com a cor de endosperma. Neste trabalho, optou-se pela utilização do alelo *Y* responsável pela cor do endosperma, em que o alelo dominante *Y* confere a cor amarela, e o *y*, a cor branca. Assim, as três linhagens utilizadas como fêmeas possuíam o genótipo *yyy*, e os três machos, cor amarela, *YYY*. Qualquer semente híbrida que tenha cor amarela é porque recebeu o pólen contendo o alelo *Y* e, portanto, é facilmente separada da que foi autofecundada, que teria os grãos brancos.

Um outro problema, sobretudo para se avaliar a capacidade competitiva entre o alopólen e o autopólen, e também verificar o efeito de xênia no peso dos grãos, foi a necessidade de se proceder à polinização simultânea na mesma espiga com os dois tipos de pólen, e na mesma quantidade. Para isso, na polinização utilizou-se o mesmo volume de pólen. Entretanto, como os pólenes podem diferir em tamanho, não foi possível mensurar precisamente se o mesmo número de grãos de pólen viáveis estava presente. O mesmo procedimento já foi utilizado anteriormente por Bulant e Gallais (1998).

Como se polinizou uma mesma planta e os grãos brancos e amarelos distribuem-se ao acaso na espiga, é esperado que, em média, os recursos alocados para os dois tipos de grãos sejam semelhantes e, assim, a diferença entre eles seja predominantemente devido à origem do pólen. Desse modo, a inferência a respeito do fenômeno de xênia torna-se mais precisa. Comentário a esse respeito também foi feito já há algum tempo por Kiesselbach e Leonard (1932).

Outra estratégia que pode ser adotada é a polinização utilizando um cartão para separar a espiga ao meio e, assim, de um dos lados, a polinização seria efetuada com alopólen, e do outro, com autopólen. Tal estratégia foi efetuada, mas no momento em que as espigas foram cortadas para a colocação do cartão, ocorreu o seu apodrecimento, inviabilizando o desenvolvimento dos grãos. É preciso salientar, entretanto, que essa estratégia tem a limitação de que a eficiência da polinização pode ser diferente nos dois lados e o desenvolvimento dos grãos possa ser afetado pela diferente competição. E nessa situação o efeito de xênia poderia vir a ser mascarado.

Um problema adicional é a dificuldade em se trabalhar com linhagens de milho, devido à depressão por endogamia, levando a uma acentuada perda de vigor, dificultando o manuseio das plantas. Neste trabalho, o problema foi mais sério, pelo fato de essas linhagens terem sido introduzidas; conseqüentemente, não são adaptadas à região. Mesmo assim, houve um bom desenvolvimento de todas as espigas polinizadas, exceto no caso da B207, o que contribuiu para que a competição dos grãos dentro das espiga fosse uniforme. Contudo, para futuros trabalhos, a melhor opção seria a utilização de híbridos simples de duas ~~linhagens irmãs~~. Desse modo, espera-se que não ocorra segregação para os caracteres associados aos grãos, tanto qualitativos como quantitativos.

Constatou-se que os grãos provenientes de alopólen foram mais freqüentes, isto é, 73,3% de cruzamento contra 26,7% de autofecundação. A planta de milho é predominantemente de polinização cruzada, por causa do fenômeno de protandria, da forma de polinização predominantemente realizada pelo vento, da disposição das folhas acima da espiga dificultando o contato dos polens com as bonecas da mesma planta (Viana et al., 1999) e, pelo que foi constatado neste trabalho, também ocorre algum mecanismo genético-fisiológico que contribui para maior viabilidade de pólen estranho.

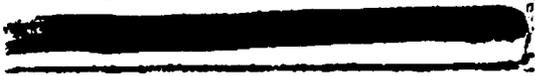
O fato da existência de algum controle genético para a viabilidade do pólen é reforçada pela diferença observada na frequência do efeito do alopólen entre as linhagens, tanto nos machos quanto nas fêmeas. O par B207 x A20 apresentou mais de 90% de polinização cruzada; já o par B204 x A33 teve uma frequência de polinização cruzada (53,5%) muito semelhante ao da autofecundação (Tabela 8).

Os dados obtidos evidenciam também que houve tendência de uma frequência crescente de autofecundação, da base para a ponta da espiga (Tabela 9). É esperado que os pólenes que fecundam os ovários situados na base da espiga sejam os mais vigorosos. Isso porque devem percorrer uma maior distância. Os dados obtidos neste trabalho mostram que o pólen estranho deve ser mais vigorosos como já mencionado.

A diferença na velocidade de desenvolvimento do tubo polínico é adaptativa, conforme comentado por Ottaviano e Sari-Gorla (1980). O fato de os grãos situados na base da espiga serem polinizados por pólenes mais vigorosos tem sido utilizado como estratégia de seleção de plantas mais produtivas. Inclusive, em trabalho que está sendo conduzido na UFLA, foram geradas duas populações, uma proveniente de grãos sempre da base e outra sempre da ponta da espiga. Após 5 ciclos seletivos, constatou-se que a diferença na produtividade média das populações derivadas da base ou da ponta foram crescentes (Bignotto, 2000)^{1/}.

O efeito de xênia, como já comentado, está relacionado a uma série de caracteres que se manifestam no embrião e no endosperma das sementes, que podem ser qualitativos, como a cor, ou quantitativos, como peso dos grãos, teor de proteína e óleo, e também quanto ao próprio desenvolvimento das plântulas nos seus primeiros dias de vida, quando essas utilizam apenas a reserva dos grãos.

^{1/} Informação pessoal – dados ainda não publicados.



Observou-se que os grãos fertilizados pelo alopólen apresentaram peso médio 7,9% acima dos autofecundados (Tabela 12). Isso mostra que o efeito de xênia contribuiu com o incremento no peso dos grãos e, conseqüentemente, na produtividade média da planta. Resultados semelhantes a esse já foram relatados em algumas oportunidades. Já no início do século XX, Kiesselbach (1926) obteve incremento em produtividade de até 35% quando o cruzamento envolveu endosperma doce x dente, em comparação com os cruzamentos doce x doce. Posteriormente, Tsai e Tsai (1990) reportaram o aumento médio em 30% para produtividade e aproximadamente 44% em acúmulo de proteínas, quando híbridos precoces foram polinizados por híbridos tardios.

Trabalhando com mistura de $\frac{1}{2}$ de alopólen e $\frac{1}{2}$ de autopólen, utilizando como marcador o gene *Y*, para a cor do endosperma, observaram que a vantagem proporcionada pelo cruzamento entre linhagens foi, na média de três anos, de 11,8% no peso dos grãos (citato em Bulant e Gallais, 1998).

Constatou-se também que o efeito de xênia dependeu da linhagem utilizada como fêmea. As linhagens B204 e B207 foram as que apresentaram maiores peso médio dos grãos. Coincidentemente, essas apresentaram a maior porcentagem de cruzamento. Entretanto, para as linhagens utilizadas como macho, não foi detectada diferença. A interação macho x fêmea também foi expressiva no efeito de xênia. Observe, na tabela 11, que no momento em que foram comparadas as diferentes fêmeas em combinação com o pólen da linhagem A33, verificou-se que o par B203 x A33 apresentava a menor média para peso de grãos; já o par B204 x A33 proporcionava a maior média. Diferença no efeito de xênia entre linhagens foi detectada também em outras oportunidades, Kiesselbach e Leonard (1932); Bulant e Gallais (1998); Bulant et al., (2000).

Essa diferença entre as cultivares para o efeito de xênia é esperada, pois as linhagens normalmente diferem na capacidade geral e específica de

combinação. Isto é, há diferença em heterose. Assim, quanto mais divergentes forem as linhagens envolvidas, maior deve ser o efeito de xênia, pois a heterose é função da existência de dominância e de divergência entre as linhagens (Falconer e Mackay, 1997).

A manifestação do efeito xênia, entretanto, sofre bastante influência do ambiente. Isso pode ser verificado no experimento de Bulant e Gallais (1998), em que o efeito de adubação influenciava tanto as linhagens quanto os híbridos simples utilizados como fêmeas. O efeito favorável de xênia foi tanto mais expressivo quanto maior o "stress" ambiental. Em todos os casos, contudo, a vantagem do cruzamento observada para as linhagens sempre superava em mais de 50% a obtida quando estavam envolvidos os híbridos

Como as sementes provenientes do alopólen apresentam maior peso, um questionamento surgiu: quais seriam as conseqüências desse efeito na germinação e emergência das plântulas? Para verificar esse fato, foram conduzidos experimento em casa-de-vegetação. Embora, as condições ambientais fossem bem controladas em termos de profundidade de semeadura, umidade, tipo de solo, a precisão experimental não foi boa. Uma das razões provavelmente foi o pequeno número de indivíduos por parcela, de apenas 12 sementes. Infelizmente, em função da produção de grãos das linhagens avaliadas, não foi possível aumentar o número de sementes por parcela.

A origem do pólen afetou a porcentagem de germinação e o peso seco das plântulas. Em média, a porcentagem de germinação das sementes oriundas do alopólen foi 8,1% acima das autofecundadas. No peso seco das plântulas, a diferença foi mais acentuada, 32,1%. Efeito da heterose na germinação e no vigor das sementes já foi constatado em várias situações, Mino e Inoue (1994); Yahamada, Ishige e Ohkawa.(1985), e; Causse, Rocher e Pelleschi (1995). Em trabalho conduzido na Universidade Federal de Lavras com a cultura do milho, Gomes (1999) também confirmou a existência da heterose na germinação. Mino

e Inoue (1994) associaram a maior atividade metabólica de RNA, proteínas e DNA nos embriões híbridos, à promoção de uma germinação mais rápida e também ao crescimento mais vigoroso, desses materiais, em comparação com os embriões de linhagens endogâmicas. Causse, Rocher e Pelleschi (1995) descreveram essa superioridade dos híbridos em termos de metabolismo mais eficiente de proteínas e lipídeos, que refletia no desenvolvimento de um eixo embrionário mais vigoroso e na maior germinação de grãos híbridos.

A tendência da diferença no peso dos grãos em função da posição na espiga também foi observada para a porcentagem de germinação e peso seco das plântulas (Tabela 9). Vale salientar, entretanto, que há alguns relatos com a cultura do milho que mostram que a origem da semente na espiga não afeta a germinação a ponto de refletir na produtividade de grãos (Andrade, Ramalho e Miranda, 1974).

Com relação às linhagens, foi detectada diferença entre os machos. Nesse caso, a linhagem A33 foi a que apresentou tendência de uma menor porcentagem de grãos cruzados; no entanto, apresentou o maior peso dos grãos e também foi a linhagem que demonstrou maior porcentagem de germinação e peso seco das plântulas. Isso é explicado pelo fato de que as espigas derivadas desse macho tiveram menor proporção de grãos híbridos; conseqüentemente, a competição dentro da espiga foi muito menor.

Um questionamento importante que surge neste momento seria o relacionado com as implicações desse fato no trabalho dos melhoristas. A principal implicação concerne aos experimentos de avaliação de famílias ou híbridos, pois o desempenho de uma determinada parcela será função direta do tipo de pólen que as plantas irão receber. Em alguns casos, poderá ocorrer um efeito acentuado de xênia para o peso dos grãos, como reflexo em produtividade, beneficiando alguma cultivar. Contudo, essa superioridade certamente irá desaparecer quando essa cultivar for plantada isoladamente. Bulant e Gallais

(1998) comentam o mesmo fato, enfatizando que nos experimentos de campo a produtividade de determinadas cultivares e/ou famílias podem ser superestimadas.

A ocorrência de xênia também pode ser aproveitada comercialmente, bastando para isso utilizar-se de uma mistura de híbridos na sementeira. Segundo Bulant e Gallais (1998), dependendo da divergência entre os híbridos, isso pode contribuir para incremento de 2 a 4% em produtividade. Dependendo do nível de produtividade obtido, esse ganho pode ser expressivo, refletindo no maior peso e melhoria no vigor de germinação.

6 CONCLUSÕES

- i. Constatou-se que houve preferência pela fertilização com alopólen, porém essa preferência variou em função da linhagem polinizadora e da receptora. A fertilização realizada pelo alopólen foi decrescente da base para a ponta da espiga;
- ii. Os grãos provenientes do alopólen foram, em média, 7,9% mais pesados, evidenciando que o efeito de xênia pode contribuir para alterar o desempenho de cultivares e/ou famílias em experimento de avaliação. O efeito de xênia variou também com a linhagem polinizadora e receptora, implicando que o seu efeito não pode ser generalizado;
- iii. O efeito xênia no peso dos grãos contribuiu para aumentar o vigor germinativo.
- iv. A manifestação do efeito xênia nos experimentos de avaliação de famílias e/ou cultivares pode atuar no sentido de super ou subestimar os resultados do programa de melhoramento, quando sua manifestação não for devidamente caracterizada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A.; RAMALHO, M.A.P.; MIRANDA, P.H.N. Influência do tamanho da semente na população de plantas, floração e produção de milho (*Zea mays*, L.). *Agros*, Lavras, v.4, n.1, p.3-10, 1974.
- BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I. Importance and stability. *Crop Science*, Madison, v.39, p.1517-1525, July 1998.
- BULANT, C.; GALLAIS, A.; MATTHYS-ROCHON, E.; PRIOUL, J.L. Xenia effects in Maize with normal endosperm: II. Kernel growth and enzyme activities during grain filling. *Crop Science*, Madison, v.40, p.182-189, Oct. 2000.
- CAUSSE, M.; ROCHER, J.P. e PELLESCI, S. Sucrose phosphate synthase: an enzyme with heterotic activity correlated with maize growth. *Crop Science*, Madison, v.35, n.4, p.995-1001, July/Aug. 1995.
- CHANG, M.T.; NEUFFER, M.G. Position of the vegetative and sperm cells of germinating pollen grain in maize (*Zea mays* L.). *Maydica*, Bergamo, v.37, p.233-243, Mar. 1992
- COELHO, C.M. Caracterização das proteínas do endosperma do milho visando à alteração das frações que controlam qualidade nutricional. Lavras: UFLA, 1997. 98p. (Dissertação -Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- CURTIS, J.J.; BRUNSON, J.E.; EARLE, F.R. Effect of the pollen parent on oil content of the corn kernel. *Agronomy Journal*, v.48, p.551-555, June 1956.
- DAVARYNIJAD, G.H.; NYEKI, J.; HAMORI SZABO, J.; LAKNER, Z. Relationship between pollen donors and quality of fruits of 12 apple cultivars eskemet, Hungary. *Acta Horticultura*, v.368, p.344-354, 1994. (International Symposium on postharvest treatment of horticultural crops.)
- DeMASON, D.A.; SEXTON, R., GRANT REID, J.S. Structure, composition and physiological state of the endosperm of *Phoenix dactylifera* L. *Annual Botanic*, v.52, p.71-80, 1983.

- DENNEY, J.O. *Xenia* includes *metaxenia*. *HortScience*, v.27, n.7, p.722-728, July 1992.
- DOEHLERT, D.C.; LAMBERT, R.J. Metabolic characteristics associated with starch, protein and oil deposition in developing maize kernels. *Crop Science*, Madison, v. 31, p.151-157, 1991.
- DUMAS, C.; MOGENSEN, H.L. Gametes and fertilization: maize as a model system for experimental embryogenesis in flowering plants. *The Plant Science*, v.5, p.1337-1348, 1993.
- EDMOND, J.B.; DRAPALA, W. The effects of temperature, sand and acetone on germination of okra seed. *S. Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, New York, v.71, p.428-434, June 1958.
- FAKOREDE, M.A.B.; AGBANA, S.B. Heterotic effects and association of seedling vigor with mature plant characteristics and grain yield in some tropical maize cultivars. *Maydica*, Bergamo, v.28, p.327-338, 1983.
- FALCONER, D.D.; MACKAY, T.F.C. *Introduction to quantitative genetics*. 4.ed. Malásia: Loygman, 1996. 464p.
- FELKER, C.F.; SHANNON, J.C. Movement of ¹⁴C-labeled assimilates into kernels of *Zea mays* L. *Plant Physiology*, Albany, v.65, p.864-870, Dec. 1980.
- GOMES, M. de Souza. *Heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho*. Lavras: UFLA, 1999. 78p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- GROSZMANN, A.; SPRAGUE, G.F.. Comparative growth rates in a reciprocal maize cross: 1. The kernel and its component parts. *Jounal American Society Agronomy*, v.40, p.88-98, 1948.
- GUIMARÃES, V.D. *Fatores que controlam a dureza do endosperma do grão de milho*. MG. Viçosa: UFV, 1997. 67p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- HABBen, J.E.; KIRLEIS, A.W.; LARKINS, B.A. The origin of lysine-containing proteins in opaque-2 maize endosperm. *Plant Mol. Biology*, v. 23, p. 825-838, 1993.
- HAGEMAN, R.H.; LENG, E.R. ; DUDLEY, J.W. A biochemical approach to corn breeding. *Advances in Agronomy*, New York, v.19, p.45-85, 1967.

- HANNAH, L.C.; GIROUX, M.; BOYER, C. Biotechnological modification of carbohydrates for sweet maize and maize improvement. In: JORGENSEN, R. **Biotechnological modification of nutritional crops**. Washington: Scientia Horticulturae, 1993. v.55, p.177-197.
- JAYARAM, C.; PETERSON, P.A. Anthocyanin pigmentation and transposable elements in maize aleurone. In: JANICK, J. **Plant breeding reviews**, Portland: Timber, 1992. 91-137.
- KIESSELBACH, T.A.; LEONARD, W.H. The effect of pollen source upon the grain yield of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Nebraska, v.24, p.517-523, Nov. 1932.
- KIESSELBACH, T.A. The immediate effect of gametic relationship and of parental type upon the kernel weight of corn. **Nebraska Agriculture Experimental Station, Bull.** v.33, p.1-69, 1926.
- LOPES, M.A.; LARKINS, B.A. Endosperm origin, development, and function. **The Plant Cell**, Rockville, v.5, p.1383-1399, Oct. 1993.
- MALAVOLTA, E.; DANTAS, J.P. Nutrição e adubação do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. Cap. 13, p. 541-590.
- MANGELSDORF, P.C., R.S. MACNEISH e W.C. GALINAT. Domestication of corn. **Science**, Washington, v. 143, p.538-545, 1964.
- MCCARTY, D.R.; CARSON, C.B. The molecular genetics of seed maturation in maize. **Physiology of Plants**, v.81, p. 267-272, 1991.
- MINO, M. ; INOUE, M. RNA and protein synthesis during germination process of F1 hybrid and its parental inbred lines of maize. **Plant Science Letters**, v.20, p.7-13, 1980.
- MINO, M. ; INOUE, M. Analysis of glucose metabolism in the heterotic viability in seedling growth of maize F1 hybrid. **Japan Journal Crop Science**, Toquio, v.63, n.4, p.682-688, 1994.
- OTTAVIANO, E.; SARI-GORLA, M. Pollen tube growth rates in zea mays: Implications for genetic improvement of crops. **Science**, Washington, v.210, p.437-438, Oct, 1980.

- PIMENTEL GOMES, F.** Curso de estatística experimental. 11.ed. Nobel, Piracicaba: Nobel, 1985. 466p.
- POPINIGIS, F.** Fisiologia da semente. 2.ed. Brasília, 1985. 289 p.
- RAMALHO, M.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.B.** Genética na agropecuária. Lavras: FAEPE, 1990.359p. (Publicações Globo Rural).
- REDDY, V.M.; DAYNARD, T.B.** Endosperm characteristics associated with rate of grain filling and kernel size in corn. *Maydica*, Bergamo, v.28, p.339-355, 1983.
- SEKA, D. ; CROSS, H. Z.** Xenia and maternal effects on maize agronomic traits at three plant densities. *Crop Science*, Madison, v.35, p. 86-90, Aug. 1995.
- SEKA, D.; CROSS, H.Z.; MCCLEAN, P.E.** Maize kernel development In vitro: sucrose concentration, xenia, and maternal effects. *Crop Science*, Madison, v.35, p.74-79, Aug. 1995.
- SHULL, G.H.** A pure-line method in corn breeding. *American Breeders Association Report*, Washington. v.5, n.1, p.51-59, 1909.
- STRUMME, A.B.; HANFT, J.M., JONES, R.J.** Carbohydrate patterns in maize kernels cultures in vivo and in vitro from the tip and middle ear positions. *Agronomy Abstract*. Madison: American Society of Agronomy, 1984. 116p.
- TAFURI, F. I.** A determination in the kernels of four lines of corn and their hybrids. *Phytochemistry*, Oxford, v.5, n.4, p.999-1003, 1966.
- TSAI, C.L.; TSAI, CY.** Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. *Crop Science*, Madison, v.30, p.804-808, 1990.
- TROYER, A.F.; MASCIA, P.N.** Key technologies imprinting corn genetic improvement, past, present and future. *Maydica*, Bergamo, v.44, n.1, p.55-68, Apr. 1999.
- WANG, F.H.** Embryological development of inbred and hybrid *Zea mays* L. *American Journal of Botanic*, v.34, p.113-125, 1947.

X WEILAND, R.T. Cross-pollination effects on maize (*Zea mays* L.) hybrids yields. **Canadian Journal of Plant Science**, Ohio, v.72, p.27-33, June 1992.

VEIT, B.; SCHMIDT, R.J.; HAKE, S.; YANOFKY, M.F. Maize floral development: new genes and old mutants. **The Plant Cell**, v.5, p.1205-1215, Oct., 1993.

VIANA, F.M.S.; SILVEIRA, M.G.; PACHECO, C.A.P.; CRUZ, C.D.; CARVALHO, C.R. Híbridaç o em milho. In: BOREM, A. Híbridaç o artificial de plantas. Viçosa: UFV, 1999. p. 401-426.

YAMADA, M.; ISHIGE, T. e OHKAWA, Y. Reappraisal of Ashby's hypothesis on heterosis of physiological traits in maize, *Zea mays* L. **Euphytica**, Wageningen, v.34, n.3. p.593-598, Nov. 1985.