

**CONTROLE GENÉTICO DE CARACTERES
ASSOCIADOS À DUREZA DOS GRÃOS E À
DEGRADABILIDADE RUMINAL DE MILHOS
TROPICAIS**

LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

2009

LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

**CONTROLE GENÉTICO DE CARACTERES ASSOCIADOS À DUREZA
DOS GRÃOS E À DEGRADABILIDADE RUMINAL DE MILHOS
TROPICAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador
Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009**

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

Davide, Livia Maria Chamma.

Controle genético de caracteres associados à dureza dos grãos e à
degradabilidade ruminal de milhos tropicais / Livia Maria Chamma
Davide – Lavras : UFLA, 2009.

88 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho.

Bibliografia.

1. Digestibilidade. 2. Componentes de variância. 3. Endosperma. 4.
Textura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 574.88

LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

**CONTROLE GENÉTICO DE CARACTERES ASSOCIADOS À DUREZA
DOS GRÃOS E À DEGRADABILIDADE RUMINAL DE MILHOS
TROPICAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 12 de março de 2009.

Dra. Flávia França Teixeira	Embrapa
Dra. Déa Alécia Martins Netto	Embrapa
Dr. Paulo César Magalhães	Embrapa
Dr. José Wilacildo de Matos	Geneze

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

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

*A Deus,
por mais esta conquista*

OFEREÇO

DEDICO

*Aos meus pais, Cláudio e Lisete, pela educação, incentivo e amor;
Ao meu noivo Rafael, pelo amor e carinho nos momentos difíceis,
A minha irmã, Helena, pelos momentos de descontração;*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Cláudio e Lisete, pelo apoio oferecido durante esses anos de estudo.

Ao meu noivo, Rafael, por estar sempre presente, me proporcionando momentos de alegria e incentivando na conquista dos meus objetivos.

À minha irmã, Helena, pela amizade e momentos de risada.

A minha avó, tios e sogros agradeço pelo carinho, torcida e orações.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador Magno, pela orientação, ensinamentos transmitidos e disponibilidade em todos os momentos.

Ao professor João Cândido de Souza, pela co-orientação e excelente convivência.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e sugestões apresentadas.

Aos professores do Departamento de Biologia pela contribuição para a minha formação e agradável convivência.

Aos colegas do “milho”, em especial ao Ulisses, pela colaboração e amigável convivência.

Aos colegas do GEN.

Aos funcionários de campo, Léo e Lindolfo, pela ajuda e disposição na condução dos experimentos.

Aos funcionários do DBI, Elaine, Eloiza, Zélia, Rafaela e Irondina, pela prazerosa convivência e disposição oferecida.

A todos que estiveram presentes e contribuíram para a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 Biologia reprodutiva do milho	4
2.2 O grão de milho	7
2.2.1 Processo de formação	7
2.2.2 Estrutura e composição química	13
2.2.3 Propriedades físicas	16
2.2.4 Textura do grão e digestibilidade.....	20
2.3 Controle genético de caracteres associados aos grãos de milho	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
CAPÍTULO 2.....	31
ULTRAESTRUTURA E VITREOSIDADE DOS ENDOSPERMAS DE MILHOS TROPICAIS DIFERINDO NA DUREZA	31
RESUMO.....	32
ABSTRACT	33
1 INTRODUÇÃO	34
2 MATERIAL E MÉTODOS	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4 CONCLUSÕES	42
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
CAPÍTULO 3.....	45
CONTROLE GENÉTICO DE CARACTERES ASSOCIADOS AO FORMATO E À DUREZA DE GRÃOS DE MILHO.....	45

RESUMO.....	46
ABSTRACT	47
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	49
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4 CONCLUSÕES	63
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
CAPÍTULO 4.....	67
ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS DA DEGRADABILIDADE DE GRÃOS DE MILHO DIFERINDO EM ESCORE DE IDENTIFICAÇÃO	67
RESUMO.....	68
ABSTRACT	69
1 INTRODUÇÃO	70
2 MATERIAL E MÉTODOS	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4 CONCLUSÕES	85
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

RESUMO GERAL

DAVIDE, Livia Maria Chamma. **Controle genético de caracteres associados à dureza dos grãos e à degradabilidade ruminal de milhos tropicais**. 2009. 88p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Os objetivos deste trabalho foram comparar a textura do endosperma das variedades de milho Cunha e Cristal, verificar se ocorre diferença entre elas na porcentagem de vitreosidade dos grãos em comparação com híbridos comerciais utilizados no Sul de Minas Gerais e obter informações a respeito do controle genético de caracteres associados ao formato e dureza dos grãos e à degradabilidade ruminal. Grãos da região mediana de cinco espigas foram utilizados para comparar a textura dos endospermas das duas variedades, analisando-se o arranjo e o formato dos grânulos de amido com um microscópio eletrônico de varredura. A vitreosidade dos grãos das variedades Cristal e Cunha e de três testemunhas (AG5011, XB8010 e P30F33), com diferentes tipos de grãos, foi obtida pelo método de dissecação manual. Para o estudo do controle genético da dureza e da degradabilidade ruminal, além das variedades Cristal e Cunha, foram também utilizadas as gerações F₂ e F₃, obtidas a partir do cruzamento dessas variedades. Grãos da região mediana das espigas foram coletados para a avaliação dos seguintes caracteres: comprimento, largura, espessura, massa seca, densidade, resistência à força de compressão e degradabilidade *in situ* da matéria seca (DISMS). Constatou-se que a textura do endosperma das variedades tropicais Cristal e Cunha é distinta e que a vitreosidade dos grãos é uma boa alternativa para a confirmação da classificação visual da dureza dos híbridos comerciais, realizada pelas empresas. No estudo do controle genético dos caracteres associados à dureza e à degradabilidade ruminal dos grãos, pode-se verificar que apenas para a resistência à força de compressão a interação alélica predominante foi aditiva e a herdabilidade alta, condição favorável para a seleção. Para os demais caracteres, com exceção da degradabilidade, houve predomínio de interações alélicas de dominância e de baixa herdabilidade. Com relação à degradabilidade *in situ* da matéria seca, foi possível constatar que há variabilidade genética para esse caráter e que não há associação entre o escore de identificação e a porcentagem de DISMS. Assim, a avaliação visual nem sempre reflete a dureza *per se* dos grãos, pois o que se vê é o aspecto do pericarpo e não a constituição do endosperma.

* Comitê de Orientação: Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA (orientador), João Cândido de Souza – UFLA (coorientador).

GENERAL ABSTRACT

DAVIDE, Livia Maria Chamma. **Genetic control of characters associated with the hardness and ruminal degradability of tropical maize grains.** 2009. 88p. Thesis (Doctoral in Genetics and Plant Breeding) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The aims of this work were to compare the endosperm texture in grains of the maize varieties Cunha and Cristal, to verify whether there is difference between them as to vitreosity percentage compared with hybrids, and to obtain information on the genetic control of characters associated with grain format, hardness and ruminal degradability. Grains at the medial region of five ears were used to compare the endosperm texture of those two varieties by analyzing the arrangement and format of starch granules through scanning electron microscopy. Grain vitreosity for the varieties Cristal and Cunha and for three controls (AG5011, XB8010 and P30F33) presenting different grain types was assessed through manual dissection. To study the genetic control of hardness and ruminal degradability, besides the varieties Cristal and Cunha, F₂ and F₃ generations obtained from the breeding between these varieties were also used. Grains at the medial region of ears were collected to evaluate the following characters: length, width, thickness, dry mass, density, resistance to compression force, and *in situ* dry matter degradability (DISMS). The varieties Cristal and Cunha had different endosperm texture and grain vitreosity. Cristal variety has endosperm mainly formed of polygonal starch granules, compacted and covered with a continuous protein matrix. In addition, similarly to the hybrids XB8010 and P30F33, it presents high vitreosity. Cunha variety had the lowest vitreosity assessment and endosperm mainly containing spaced round starch granules. In the study of genetic control of characters associated with grain hardness and ruminal degradability, only for resistance to compression force, the predominant allelic interaction was additive and the heritability high, a favorable condition to selection. For the remaining characters, except degradability, allelic interactions of dominance and high heritability prevailed. As regards *in situ* dry matter degradability, there is genetic variability for this character and no association between indentation score and DISMS percentage. Thus, visual evaluation not always reflects grain hardness *per se*, since it indicates the pericarp aspect but not the endosperm constitution.

* Guidance Committee: Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA (Major Professor), João Cândido de Souza - UFLA (Co-Adviser).

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

No Sul de Minas Gerais situa-se uma importante bacia leiteira do país. Nessa região, o milho é um dos principais alimentos, seja na forma de grãos ou de silagem. Na produção dessa gramínea ocorre enorme diversidade no sistema de manejo. Alguns agricultores utilizam todas as tecnologias disponíveis. Contudo, no outro extremo, há aqueles em que o manejo da cultura é muito precário e, inclusive, ainda utilizam variedades de polinização livre. Algumas dessas variedades foram passadas de pais para filhos e permanecem em cultivo por dezenas de anos. Pelo menos duas delas se destacam. Uma delas é a Cristal, também denominada de Milho-ferro e a Cunha. As plantas dessas variedades são características de milhos tropicais, sendo excessivamente altas, com inserção de espigas elevada e tardias. Diferem também com relação ao tipo de grãos. A variedade Cristal possui grãos do tipo duro, enquanto a Cunha possui grãos dentados.

A dureza de um grão de milho tem importância agronômica, econômica e pode influenciar a forma como uma cultivar será utilizada. Nos últimos anos, têm se incrementado as pesquisas visando ao entendimento da relação entre a dureza dos grãos e a digestibilidade desse alimento no rúmen do animal. Tem sido aventado que cultivares com grãos do tipo dentado possuem maior degradabilidade que as de grãos do tipo duro (Cantarelli et al., 2007; Ngonyamo-Majee et al., 2008). Considerando que, no caso das duas variedades mencionadas anteriormente, o aspecto dos grãos indica grande variação na dureza, é provável que elas difiram na digestibilidade.

Para responder a essas e a outras indagações buscou-se, com a realização deste trabalho: comparar a textura do endosperma das variedades Cunha e Cristal; verificar se ocorre diferença entre elas na porcentagem de vitreosidade dos grãos em comparação com híbridos comerciais utilizados no Sul de Minas

Gerais e obter informações a respeito do controle genético de caracteres associados à dureza dos grãos e à degradabilidade ruminal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Biologia reprodutiva do milho

O milho (*Zea mays* L. spp *mays*) é uma planta monoica, que apresenta pendão, ou inflorescência masculina, localizado na parte terminal do colmo. Este pendão consiste de uma panícula, composta por um eixo central, denominado ráquis, com várias ramificações laterais. Ao longo dessas ramificações estão presentes pares de espiguetas arranjadas de forma alternada, sendo uma séssil e outra pedicelada. As espiguetas possuem um par de brácteas protetoras, as glumas, em forma de bainha, envolvendo duas pequenas flores. Cada flor é composta de lema e pálea, as quais envolvem três estames, duas lodículas e um pistilo abortado (Viana et al., 1999; McSteen et al., 2000).

O estame diferencia-se a partir de um lóbulo no ponto de crescimento central da flor e sua extremidade superior dá origem a antera. Nas anteras estão presentes células especializadas, conhecidas como microsporócitos. Cada microsporócito sofre duas divisões celulares meióticas e, após a segunda divisão, origina quatro micrósporos que, por diferenciação, irão produzir os grãos de pólen. Esses, após suas divisões mitóticas, constituem uma estrutura especializada com três células, sendo uma vegetativa e duas reprodutivas (Viana et al., 1999; Ramalho et al., 2008).

Os grãos de pólen são armazenados no interior da antera, mais precisamente nos sacos polínicos. Estima-se que, em cada uma dessas estruturas, sejam encontrados, aproximadamente, 2.500 grãos de pólen (Bignotto, 2002). Os grãos de pólen possuem formato esférico, diâmetro entre 73,4 a 92,6 μm e parede espessa, exceto na região do poro germinativo, local onde o tubo polínico emergirá (Styles & Singla, 1987).

O número de grãos de pólen produzidos por planta é bem superior às suas necessidades de polinização. Segundo Kiesselbach (1980), na cultivar

Nebraska White Prize, são produzidos 25 milhões de grãos de pólen por pendão. Considerando que uma planta produza 1.000 sementes, têm-se 25.000 grãos de pólen para cada semente produzida. O mesmo autor estima que, para cada inflorescência feminina, sejam depositados, aproximadamente, 322.500 grãos de pólen e, em cada estilo-estigma, 323. Considerando que milhos tropicais possuem pendões maiores que milhos temperados, o número de grãos de pólen produzidos por grãos fertilizados deve ser ainda maior nas cultivares brasileiras (Bignotto, 2002).

A liberação desses grãos de pólen inicia-se no eixo principal do pendão, de cima para baixo e, em seguida, nas ramificações laterais. Esse processo pode durar mais de uma semana. A duração total da floração de uma panícula varia de 3 a 12 dias e a de um campo de milho pode variar de 10 a 20 dias. Temperaturas elevadas encurtam esses períodos, enquanto temperaturas mais amenas podem prolongá-los (Goodman & Smith, 1987; Magalhães & Durães, 2006).

Com relação à duração da viabilidade do pólen, essa é muito influenciada pelas condições externas, sendo bastante reduzida em condições de baixa umidade do ar e altas temperaturas. Villax & Nunes (1953) observou que, no campo, à sombra (temperatura 25°-35°C, umidade relativa de 30%-70%), o pólen pode manter-se viável durante 3 horas. O pólen praticamente perde a viabilidade 6 horas após a antese, podendo ainda germinar 1 a 3 dias depois, porém, em porcentagem muito reduzida. Resultado semelhante ao citado anteriormente foi observado por Luna et al. (2001), os quais verificaram que o pólen se mantém viável entre uma a duas horas após a antese.

A inflorescência feminina, ou espiga, desenvolve-se por diferenciação das gemas existentes nas axilas foliares do colmo. Inicialmente, as inflorescências localizadas nas inserções mais baixas do colmo se desenvolverão mais rápido que aquelas que estiverem em posição superior a estas. Entretanto, o crescimento das espigas da região basal da planta torna-se lento e somente uma

ou duas espigas em posição superior na planta se desenvolverão em espigas produtivas (Ritchie et al., 2003).

Cada espiga é composta por palha, sabugo e espiguetas (flores femininas). As palhas são bainhas foliares originadas a partir de um único nó, fortemente sobrepostas uma sobre as outras e envolvem a espiga. O sabugo é um eixo ao longo do qual se encontram reentrâncias ou alvéolos. Nesses alvéolos, desenvolvem-se as espiguetas, que estão dispostas aos pares, formando um espiral em torno do sabugo. Cada espigueta possui duas flores, uma sésil e outra pedicelada, mas apenas a flor superior de cada espigueta é funcional. As espiguetas são parcialmente envolvidas pelas glumas e apresentam, internamente, uma flor parcialmente envolvida por lema e pálea, além de um pistilo funcional, com ovário basal único e estilo longo (Viana et al., 1999; Lima, 2006).

O estilete é um filamento de conexão entre o estigma e o ovário. O ovário situa-se na parte basal da flor, onde está aderido ao sabugo. Ele é constituído por parede e óvulo que, por sua vez, apresenta funículo, integumentos, micrópila, nucela e saco embrionário (Viana et al., 1999).

O conjunto formado pelos estilos e estigmas é denominado de cabelo ou barba da espiga. Esses fornecem umidade aos grãos de pólen capturados, os quais germinam e emitem o tubo polínico por meio de um poro germinativo. Considerando que a espiga seja dividida longitudinalmente em quatro partes, os estilos-estigma que aparecem primeiro são aqueles desenvolvidos no segundo quarto da espiga a partir da base da mesma. Posteriormente, aparecem aqueles do terceiro quarto e, simultaneamente, do quarto basal e do ápice da espiga. Dessa forma, os estilos-estigmas provenientes dos óvulos da base da espiga possuem maior comprimento que aqueles oriundos da região apical (Cárcova et al., 2003; Cárcova & Otegui, 2007).

O estilo-estigma pode atingir até 45 cm de comprimento e cada um deles é responsável pela fertilização de um grão na espiga (Mercer, 2001). O crescimento dessa estrutura é verificado por cerca de 3 a 8 dias, sendo mais intenso durante os três primeiros dias e, em seguida, diminuindo gradualmente o valor do alongamento diário (Fancelli & Dourado-Neto, 2000). O desenvolvimento dos estilos-estigmas é maior de manhã e, em especial, à tarde entre 17-19 horas, sendo muito pequeno no meio do dia e durante a noite (Villax, 1953; Cárcova et al., 2003).

Os estilos-estigma tornam-se receptivos imediatamente após a emergência, permanecendo assim por até 14 dias, em condições favoráveis (Goodman & Smith, 1987; Magalhães & Paiva, 1993). Caso a polinização ocorra um a três dias após a sua emergência, apenas as flores da metade da espiga serão fecundadas. A fecundação de todas as flores da espiga só será verificada se a polinização for efetuada entre o sétimo e nono dia, aproximadamente (Cárcova et al., 2003). Quando não fecundados, os estilos-estigma começam a secar a partir da extremidade após o período de alongamento.

2.2 O grão de milho

2.2.1 Processo de formação

O grão de milho é um fruto tipo cariopse que apresenta como característica a presença de uma única semente presa ao pericarpo em toda a sua extensão (Smith et al., 2004). O processo de formação desses grãos ocorre a partir da antese, quando os grãos de pólen são liberados pelo pendão, recaindo sobre estilos e estigmas receptivos.

Os grãos de pólen germinam logo após o contato com os pelos viscosos do estilo-estigma. Villax (1953) comenta que a germinação pode ser verificada,

em pequena escala, 3 horas depois da polinização. O mesmo autor observa, ainda, que, para obter elevada porcentagem de germinação, é necessário que tenham decorrido mais de 8 horas após o momento em que os grãos de pólen caíram sobre os estigmas. Chang & Neuffer (1992) estimam que os grãos de pólen possam germinar 5 minutos após o contato com o estilo-estigma e que a fertilização ocorra entre 12 e 36 horas após a polinização.

A germinação do grão de pólen consiste na emissão do tubo polínico. O estabelecimento do contato direto entre o grão de pólen e os pelos viscosos do estigma estimula a germinação do primeiro, dando origem ao tubo polínico, que é responsável pela fecundação do óvulo inserido na espiga (Swanson et al., 2004).

Os tubos polínicos germinam e crescem, inicialmente, com base nas substâncias de reserva contidas no próprio grão de pólen. Posteriormente, esses dependem do tecido do estilo-estigma, no qual eles se desenvolvem. A direção do seu crescimento é orientada por mecanismos quimiotrópicos. Substâncias produzidas pelas células de cada ovário são responsáveis por atrair o tubo polínico para o óvulo, quando esse passa do estilo-estigma para a cavidade do ovário (Swanson et al., 2004).

Diferenças nas taxas de crescimento dos tubos polínicos ao longo de todo o seu percurso têm sido observadas e estas são controladas por genes gametofíticos (Brieger & Blumenschein, 1966).

O tubo polínico pode seguir por uma determinada distância na superfície do estilo-estigma e, em pouco tempo, este se insere entre as células dos pêlos do estigma (Figura 1) e estende-se até que sua ponta atinja a micrópila. Após atingir a micrópila, o tubo polínico continua se desenvolvendo entre as células do tecido nucelar, até atingir o saco embrionário, onde ocorrem o rompimento de sua extremidade e a liberação de dois núcleos reprodutivos (Kiesselbach, 1980).

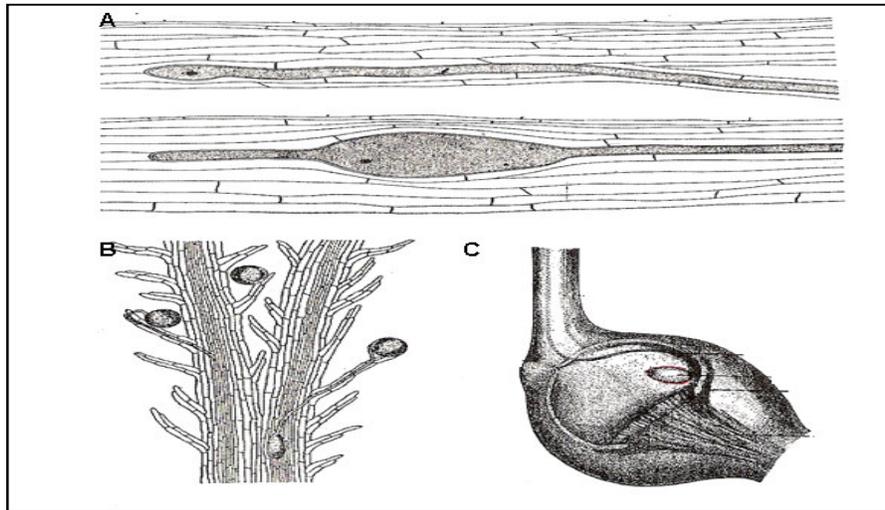


FIGURA 1A Esquema do tubo polínico penetrando e em desenvolvimento entre as células do estilo-estigma (270X). B - Corte longitudinal mostrando a presença de pelos ao longo do estilo-estigma e grãos de pólen germinando (45X). C - Esquema do pistilo indicando o caminho do tubo polínico até o saco embrionário (40X). Fonte: Kisselbach (1980).

Neste instante, ocorre a dupla fertilização. Um dos núcleos reprodutivos se funde com a oosfera, gerando a célula ovo ou zigoto que, por meio de mitoses sucessivas, dará origem ao embrião da semente. O outro núcleo reprodutivo se funde com dois núcleos polares, formando uma célula triploide ($2n = 3x$) que se divide mitoticamente para originar o endosperma (Ramalho et al., 2008).

Vários grãos de pólen podem germinar em um mesmo estilo-estigma, porém, normalmente, apenas um óvulo será fertilizado. Os óvulos não fertilizados eventualmente degenerarão, não produzindo grãos de milho.

Após a fertilização, inicia-se a fase de desenvolvimento dos componentes dos grãos, como pericarpo, embrião e endosperma.

O pericarpo corresponde às camadas que envolvem o endosperma e o embrião. Essa estrutura se origina a partir do crescimento das paredes do ovário

que revestirão a semente. O pericarpo é, portanto, um tecido materno independente da fertilização (Kisselbach, 1980; José et al., 2005).

No processo de desenvolvimento do embrião, o zigoto sofre vários ciclos de divisão celular, seguido por diferenciação, a fim de formar um pré-embrião, com forma e características próprias da espécie (Kisselbach, 1980). Em seguida, esse continua seu crescimento até a maturação completa da semente. O embrião, então, é oriundo do crescimento e da diferenciação do zigoto e nele se encontram as estruturas que originarão uma nova planta, a partir do momento em que a semente for exposta a condições favoráveis a sua germinação (Mercer, 2001).

São conhecidos, na literatura, três modelos principais de formação do endosperma: nucelar, celular e helobial (Lopes & Larkins, 1993). No milho, assim como em arroz e em cevada, ocorre o modelo nucelar. Nesse modelo, três a cinco horas após a fertilização, a estrutura celular formada na fusão dos três núcleos primários do endosperma passa por várias divisões, sem citocinese, resultando em uma célula multinucleada contendo 128 a 250 núcleos (Olsen et al., 1992; Becraft & Asuncion-Crabb, 2000). Em uma fase mais adiantada, iniciam-se as citocineses na região periférica em direção ao centro da célula multinucleada (Lopes & Larkins, 1993; Becraft & Asuncion-Crabb, 2000; Becraft, 2001).

As células centrais aumentam rapidamente de tamanho. Normalmente, 12 dias após a polinização, o endosperma ocupa o espaço destinado a ele no grão maduro e as células da camada mais externa diferenciam-se em aleurona (Figura 2). Em seguida, é verificado o aumento do peso seco, do conteúdo de proteínas totais, de corpos proteicos e de zeínas (Becraft & Asuncion-Crabb, 2000).

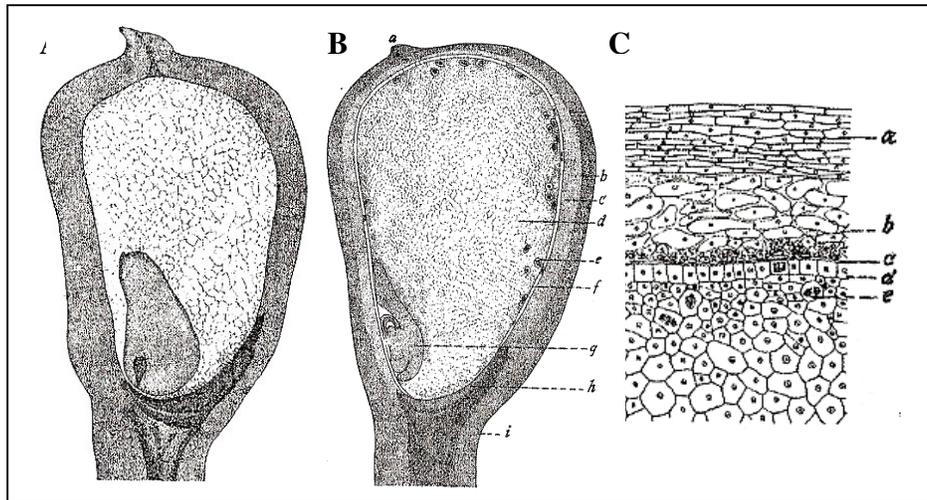


FIGURA 2A Semente com cerca de 10 dias após a polinização (DAP), (10X). B - Semente com cerca de 20 DAP (10X): (a) cicatriz da espiga, (b) pericarpo, (c) parte interna do carpelo, (d) endosperma, (e) região de mitose no endosperma (f) aleurona, (g) embrião, (h) região do hilo, (i) pedicelo. C - Seção através do endosperma e pericarpo da figura B, mostrando detalhes do (a) pericarpo (b) parte interna do carpelo, (c) membrana nucelar, (d) aleurona e (e) endosperma mostrando mitoses (30X). Fonte: Kisselbach (1980).

De acordo com Olsen (2001) e Becraft (2001), ao final do processo de formação do endosperma esse é constituído por três grandes tipos de células: células do endosperma amiláceo, da camada de aleurona e de transferência (Figura 3).

As células do endosperma amiláceo ocupam a região central e constituem a maior parte do tecido do endosperma. Duas regiões especializadas são visíveis dentro do endosperma amiláceo: a subaleurona, que é uma região de proliferação celular durante as fases mais avançadas de desenvolvimento do endosperma e uma segunda região, denominada de região em torno do embrião (ESR), que consiste de pequenas células, com citoplasma mais denso que em outras células do endosperma amiláceo.

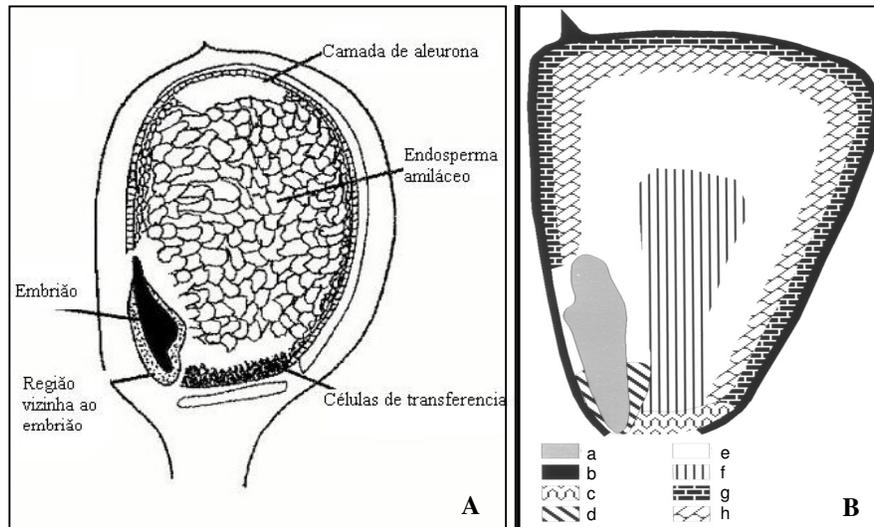


FIGURA 3A Corte longitudinal de um grão de milho, aos 15 dias após a polinização, mostrando os diferentes tipos de células do endosperma. Fonte: Olsen (2001). B - Representação diagramática em uma seção logitudinal dos tipos de células do endosperma de uma semente de milho, sendo: (a) embrião, (b) pericarpo, (c) região transcrição do gene BETL, (d) região que envolve o embrião, (e) endosperma amiláceo, (f) tecidos de condução, (g) aleurona e (h) subaleurona. Fonte: Becraft (2001).

As células de transferência da região basal do endosperma residem acima do pedicelo e transferem nutriente dos tecidos maternos para o endosperma em desenvolvimento.

A aleurona é uma camada densa de células que cobre a superfície do endosperma. Após a germinação da semente de milho, as células da aleurona são estimuladas, por ácido giberélico, a secretar enzimas hidrolíticas que quebram os compostos armazenados no endosperma amiláceo, tornando aminoácidos livres e açúcares simples disponíveis para absorção pelas sementes em desenvolvimento.

O conhecimento dos tipos de células do endosperma e das suas funções tem grande importância quando se consideram suas possibilidades de aplicações

práticas. Por exemplo, a manipulação das células de transferência pode aumentar a eficiência na captação de solutos, levando ao aumento de produtividade dos grãos (Becraft, 2001). Outra alteração que traria grandes vantagens seria na composição da camada de aleurona, já que esta é rica em substâncias de importância econômica, como o ácido fítico, que é prejudicial em produtos de milho não cozidos. Essas células também são importante fonte de amilase no processo de maltação, sendo de grande interesse para as indústrias que utilizam o malte nas suas bebidas (Becraft, 2001).

2.2.2 Estrutura e composição química

Os grãos de milho são formados, basicamente, por quatro estruturas físicas principais: pedicelo, pericarpo, embrião e endosperma, que correspondem a, aproximadamente, 1%, 5%, 12% e 82% do peso seco do grão (Carvalho & Nakagawa, 2000). Essas estruturas apresentam, como principais componentes, amido, proteínas e óleos (Tabela 1).

O pedicelo é a menor estrutura do grão e a única não coberta pelo pericarpo, sendo responsável pela conexão do grão ao sabugo. Sua composição é, essencialmente, de material proteico.

O pericarpo é um tecido diploide, de origem materna, com 20 cromossomos e responsável pela proteção das outras estruturas do grão a fatores como alta umidade, insetos e microrganismos. É composto por uma camada de material fibroso, constituído, principalmente, de polissacarídeos do tipo hemicelulose e celulose, localizado em toda a superfície externa da semente (Paes, 2006).

TABELA 1 Porcentagem dos constituintes totais, mensurada na base seca das estruturas físicas do grão de milho.

Componentes do Grão	Endosperma	Embrião	Pericarpo	Pedicelo	Grão inteiro
Amido	86,4	8,2	7,3	5,3	71,5
Proteína *	9,4	18,8	3,7	9,3	10,3
Óleo	0,8	34,5	1,0	3,8	4,8
Açúcar	0,64	10,80	0,34	1,54	1,97
Cinza	0,31	10,10	0,84	1,56	1,44
Inteiro	81,9	11,9	5,3	0,8	99,9

* (P= N x 6,25).

Fonte: Carvalho & Nakagawa (2000).

O embrião, assim como o pericarpo, possui $2n = 2x = 20$ cromossomos. Essa estrutura apresenta níveis elevados de lipídeos e proteínas e baixa porcentagem de amido.

O endosperma é um tecido triploide, composto, basicamente, por proteínas e amido, os quais representam, respectivamente, 9,4% e 86,4% do grão seco. O amido encontrado no endosperma é sintetizado a partir da sacarose, que é translocada para o endosperma em desenvolvimento e convertida em glicose-1-fosfato. Essa é incorporada em ADP-glicose e polimerizada em amilose (20-30%) e amilopectina (70-80%), que são empacotadas como grânulos cristalinos nos amiloplastos e envolvidas por uma matriz proteica, o estroma (Soave & Salamini, 1984; Lopes & Larkins, 1993). A amilose é uma molécula essencialmente linear, formada por unidades de D-glicose ligadas em α -1,4 com um pequeno número de ramificações. Já a amilopectina é uma molécula altamente ramificada, formada por unidades de D-glicose ligadas em α -1,4 e com 5% a 6% de ligações α -1,6 nos pontos de ramificação (James et al., 2003). O arranjo da amilose e da amilopectina nos grânulos leva à formação de zonas de deposição mais ou menos densas, sendo as regiões onde se concentra a amilopectina mais densas que as demais.

No milho, os grânulos de amido variam de 12 a 25 μ m de diâmetro (Cereda, 2002). O formato e o tamanho desses grânulos dependem do local onde

são armazenados no endosperma. Nos grãos maduros, grânulos com superfície lisa e formato esférico localizam-se no endosperma farináceo, enquanto que superfícies irregulares e formatos mais angulares podem ser encontrados em endosperma vítreo. Quanto ao tamanho, os grânulos menores podem ser observados no endosperma vítreo e os maiores no endosperma farináceo (Smith et al., 2004).

No endosperma, as proteínas são classificadas em zeínas (proteínas de reserva ou prolaminas) ou não-zeínas (albumina, globulina e glutelinas) (Gibbon & Larkins, 2005).

No milho, as zeínas são as proteínas mais abundantes, representando de 50% a 60% da proteína total do endosperma. As zeínas estão localizadas no endosperma do grão, na forma de corpos proteicos. Essas proteínas são sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso. O início da síntese das zeínas ocorre entre 8 a 12 dias após a polinização (DAP), sendo máxima entre 16 e 35 DAP e continua até 40 a 45 DAP (Gibbon & Larkins, 2005; Pereira, 2006). Essas proteínas não possuem atividade enzimática e são fontes de aminoácidos e energia para o embrião e as plântulas em desenvolvimento (Habben et al., 1993).

As zeínas compreendem quatro grupos estruturalmente distintos α , β , γ e δ , que podem ser separados com base na estrutura primária e na solubilidade em soluções aquosas de álcool. As α -zeínas são as proteínas mais abundantes, perfazendo, aproximadamente, 60% das proteínas de reserva, seguidas pelas γ -zeínas (25%), β -zeínas (5-10%) e δ -zeínas (5%). Existe diferença na composição proteica em regiões do grão, variando em textura do endosperma. A α -zeína ocorre mais em endosperma duro que em endosperma farináceo. Regiões de endosperma macio contêm maior porcentagem de γ -zeína que regiões de endosperma duro (Dombrink-Kurtzman & Bietz, 1993).

Os polipeptídeos das diferentes classes de zeínas variam, em tamanho, de 10 kDa a 27 kDa. As α -zeínas possuem pesos moleculares entre 19 e 22 kDa,

as γ -zeínas de 16 e 27 kDa, as β -zeínas de 14 kDa e as δ -zeínas são proteínas pequenas, de 10 kDa (Ortega & Bates, 1983).

As não-zeínas são proteínas encontradas em vários tecidos do grão e estão envolvidas em funções primárias específicas necessárias para o desenvolvimento do endosperma (Habben et al., 1993). Dentre as não-zeínas estão as proteínas estruturais, inibidoras de proteases, inibidoras de α -amilase, lecitinas, tioninas, inativadoras de ribossomas e algumas enzimas, como a sintetase de sacarose e a urease.

2.2.3 Propriedades físicas

Embora pouco se conheça sobre os fatores bioquímicos, genéticos e estruturais que afetam as propriedades físicas do grão, é sabido que esta é de grande importância no processamento e conservação do milho. Para melhor entender essas propriedades e suas implicações na estrutura dos grãos desse cereal, é necessário, inicialmente, defini-las.

A textura do grão refere-se à proporção de endospermas vítreo e farináceo presentes no mesmo e está relacionada com a continuidade da matriz proteica, como também com a quantidade e o tamanho dos corpos proteicos e dos grânulos de amido (Shull et al., 1990; Smith et al., 2004). A textura tem sido discutida como uma característica de grãos maduros. Entretanto, alguns autores observaram que a textura poderia ser distinguida em grãos imaturos, desde que esses fossem secos ao ar. Isso demonstra que fatores responsáveis por causar diferenças na textura de grãos maduros já estão presentes em grãos imaturos (Turnbull & Rahman, 2002).

Os grãos de milho são classificados, quanto ao tipo de grãos, em dentados, semidentados, semiduros e duros. Grãos do tipo dentado apresentam matriz proteica descontínua, com poucos corpos proteicos, grânulos de amido maiores e menos agregados (Tabela 2). Grãos do tipo duro possuem matriz

proteica contínua, com grânulos de amido menores e mais agregados. Nesses grãos, o endosperma vítreo pode ser encontrado nas laterais e ocupa quase todo o volume do mesmo, enquanto a proporção farinácea é muito reduzida e localiza-se no centro dos grãos (Fornasier Filho, 1992; Smith et al., 2004).

Além dos grãos com endosperma duro e mole, ainda podem ser encontrados alguns mutantes com diferentes texturas, devido a alterações na qualidade da proteína do endosperma, no teor de amido, nas propriedades físico-químicas do amido e no teor de polissacarídeos solúveis em água (Motto et al., 1989; Lopes, 1993).

Vários desses mutantes são descritos, por Neuffer et al. (1997), como, por exemplo: *ae*₁ (*amylose extender*), aumenta o teor de amilose do endosperma de 25% para cerca de 70%; *amy*₁ e *amy*₂ (*amylase*), codificam alfa e beta amilose; *bt*₁ e *bt*₂ (*brittle endosperm*), aumentam o teor de açúcar e reduzem o teor de amido; *du*₁ (*dull endosperm*), afeta a síntese do amido solúvel; *fl*₁, *fl*₂, e *fl*₃ (*floury*); *h*₁ (*soft starch*); *ref*₁ (*reduced floury endosperm*); *o*₁ a *o*₁₄ (*opaque endosperm*); *se*₁ a *se*₆ (*soft endosperm*); *sh*₁ e *sh*₂ (*shrunk*) e *su*₁ e *su*₂ (*sugary*) e *wx*₁ (*waxy*), aumentam o teor de açúcar e de polissacarídeos solúveis em água. Segundo Greech (1965), os mutantes *ae*, *du*, *su*₂ e *wx* são interessantes para os geneticistas de milho, devido aos seus efeitos na proporção de amilose e de amilopectina do grão.

Muitos desses mutantes não apresentam valor comercial. Entretanto, de acordo com Smith et al. (2004), existem mutantes amplamente utilizados, como os milhos do tipo doce, com alta amilose, QPM, ceroso e Cuzco.

A vitreosidade e a dureza, embora não designem a mesma propriedade, são comumente empregadas para se referir à textura do grão de milho. A vitreosidade está mais relacionada com a aparência do endosperma, enquanto a dureza se refere nitidamente a uma propriedade física (Shull, 1988).

Semelhante ao que ocorre em outros tipos de grãos, a dureza da semente de milho é determinada, principalmente, por fatores genéticos. Fatores ambientais, como a aplicação de altas dosagens de nitrogênio e o manejo pós-colheita (transporte, secagem e armazenamento), podem influenciar essa propriedade (Watson, 1987; Li et al., 1996). Entretanto, Turnbull & Rahman (2002) argumentam que, apesar da importância dos efeitos ambientais, esses, raramente, são suficientes para que ocorra uma reclassificação nesta propriedade.

Com relação à base química da dureza, sabe-se que ela pode ser determinada por variações na composição química, na organização estrutural dos componentes dos grânulos de amido, na espessura da parede celular, na camada de proteínas entre os grânulos, na presença de espaços intercelulares e no grau de compactação desses componentes (Dombrink-Kurtzman & Bietz, 1993; Lee et al., 2005).

TABELA 2 Características gerais de grãos de milho dentados e duros.

Componentes do grão	Grão dentado	Grão duro
Aspecto grão	Opaco	brilhante
Grânulos de amido	Arredondados	poligonais
Corpos protéicos	poucos e menores	maiores
Densidade	Baixa	alta
Matriz protéica	Descontínua	contínua

A quantidade e o tipo de zeína são também conhecidos por afetar a dureza do grão. Wallace et al. (1990) verificaram que a γ -zeína de 27 kDa tem grande participação na formação do endosperma vítreo, uma vez que se observa o aumento dessa nos genótipos QPM (vítreos), comparados aos farináceos Opaco-2. Lee et al. (2005) observaram que o conteúdo de proteínas está altamente correlacionado com a maioria das propriedades físicas dos grãos. Os mesmos autores relatam que o maior teor de proteína em relação ao conteúdo de

amido pode aumentar a dureza da semente pela formação de uma matriz proteica altamente estruturada. Em estudo realizado por Landry e Delhaye (2007), os autores concluíram que o endosperma vítreo e o farináceo são, respectivamente, ricos e pobres em zeínas.

Algumas características do endosperma devem ser consideradas nos programas de melhoramento, visando à seleção de genótipos com endosperma vítreo ou farináceo. A vitreosidade, por exemplo, pode ser utilizada como medida objetiva da textura do grão de milho. Entretanto, medidas diretas dessa propriedade são trabalhosas e podem ser substituídas por medidas indiretas, como a densidade dos grãos (Correa et al., 2002).

De acordo com Pereira (2006), as cultivares de endosperma duro e semiduro apresentaram os maiores valores de densidade e também um melhor empacotamento dos grânulos de amido, parede celular com aspecto mais firme e os grânulos de amido com formato poligonal.

Vários métodos têm sido utilizados com o objetivo de melhor elucidar a dureza dos grãos de milho. Dentre eles, podem-se citar o tempo requerido para moagem, a estimativa do escore de indentação, a densidade do grão, o índice de tamanho da partícula (PSI), o teste de compressão, o teste de Stenvert Hardness, NIR (*conducting spectral analysis by near-infrared reflectance*) e o uso de análise estatística multivariada (Abdelrahman & Hosney, 1984; Pomeranz et al., 1985; Kniep & Mason, 1989; Mestres et al., 1991; Lee et al., 2005; Ngonyamo-Majee et al., 2008).

Muitas empresas produtoras de sementes acreditam que a diferença entre os grãos duros e dentados pode ser facilmente identificada avaliando-se o escore de indentação. Por esse método, grãos com extremidade superior lisa e arredondada são considerados duros e grãos com extremidade superior enrugada, dentados. Apesar de tratar-se de um dos métodos mais utilizados para a classificação da dureza dos grãos, ele deve ser usado com ressalvas, pois pode

induzir a erros. Isso porque a textura é somente avaliada considerando o aspecto visual dos grãos, não levando em consideração que a dureza depende não apenas do pericarpo, como também da composição e da estrutura do endosperma. Além disso, cada empresa utiliza uma escala de notas para a classificação, gerando divergência, principalmente nas classes intermediárias.

2.2.4 Textura do grão e digestibilidade

Devido ao alto conteúdo de amido no grão, em torno de 70%, o milho representa uma importante fonte de energia na dieta de ruminantes e suínos (Silva et al., 2005; Cantarelli et al., 2007).

A maioria dos híbridos comerciais produzidos nacionalmente é do tipo duro ou semiduro, enquanto que, na quase totalidade dos países produtores de milho no mundo, predomina o tipo dentado (Paes, 2006). Esse fato pode ser explicado pela crença dos agricultores brasileiros de que o milho duro é mais resistente ao armazenamento, enquanto a preferência por milhos dentados é explicada pela maior digestibilidade desse quando comparado ao milho duro.

Grãos do tipo duro apresentam maior proporção de endosperma vítreo que grãos dentados e grânulos de amido envolvidos por uma matriz proteica contínua que é extremamente resistente à digestão pelos microrganismos ruminais (McAllister et al., 1993). Segundo Kotarski et al. (1992), a matriz proteica parece limitar a digestão enzimática do amido, sendo responsável pelas diferenças na degradabilidade ruminal dos grãos.

A proteína do endosperma vítreo é relativamente resistente à entrada de água e à ação de enzimas hidrolíticas. Sendo assim, a interação amido-proteína influencia a digestibilidade do amido, podendo reduzir sua suscetibilidade à hidrólise enzimática. Em grãos duros, os grânulos de amidos podem estar completamente embebidos em uma matriz proteica, tanto no endosperma vítreo

quanto no endosperma farináceo, dificultando a hidrólise enzimática (Pratt et al., 1995; Pereira et al., 2004).

Na literatura, são encontrados vários trabalhos que obtiveram maior degradabilidade ruminal do amido e da matéria seca em grãos do tipo dentado do que em grãos duros (Philippeau et al., 1998; Philippeau & Michalet-Doreu, 1998).

A degradação ruminal da matéria seca parece ser uma medida eficiente da degradação ruminal do amido nos grãos de milho. A degradabilidade ruminal da matéria seca dos grãos apresenta como vantagens menor custo e trabalho requeridos nas análises laboratoriais, quando comparados à degradabilidade ruminal do amido. Correa (2001) verificou correlação positiva e alta entre a degradabilidade ruminal do amido e da matéria seca.

A degradabilidade ruminal do amido parece ter correlação negativa com a vitreosidade. Correa et al. (2002) encontraram correlação, entre vitreosidade e degradabilidade *in situ* do amido, de -0,93. Cantarelli (2003) concluiu que o milho dentado apresenta menor vitreosidade e, por isso, melhor valor nutricional que híbridos semiduros e duros, sendo, inclusive, superior, em alguns parâmetros nutricionais, aos milhos especiais alto óleo e QPM.

A degradabilidade também varia em função do estágio de maturidade da planta. Pereira et al. (2004) avaliaram os efeitos da textura e do estágio de maturidade sobre a degradabilidade ruminal de grãos de milho, utilizando o método de degradabilidade *in situ*. Os autores concluíram que a utilização de híbridos dentados, comparativamente a híbridos duros, pode resultar em menor queda relativa na digestão ruminal do amido, em situações de colheita tardia dos grãos.

Diante do exposto, fica evidente que a atual baixa disponibilidade de híbridos mais macios no comércio brasileiro de sementes dificulta a escolha por materiais que produzam silagem altamente digestível.

2.3 Controle genético de caracteres associados aos grãos de milho

O estudo do controle genético de caracteres relacionados ao milho tem sido frequente na literatura. Entretanto, faltam trabalhos que se refiram aos grãos, como, por exemplo, relacionados ao controle genético da dureza e do tamanho dos mesmos (Silva, 2006; Lima et al., 2008).

No entanto, a escassez desse tipo de trabalho não deve ser relacionada à falta de importância do assunto. Assim como para a maioria dos caracteres de importância econômica, aqueles associados aos grãos de milho são tipicamente quantitativos e bastante influenciados pelo ambiente. Para auxiliar as decisões dos melhoristas quanto a estes caracteres, torna-se necessário o conhecimento da variabilidade fenotípica herdável e dos principais mecanismos de ação gênica envolvidos.

Johnson e Russel (1982) avaliaram características agronômicas e relacionadas à qualidade física de grãos, em 80 linhagens e 40 híbridos provenientes das populações BSSS. A herdabilidade estimada para tipo de grão (notas entre duros e dentados), a resistência ao quebramento, a densidade, o peso e o volume de 300 grãos foram superiores a 80%, com exceção para o caráter densidade. Os autores concluíram que há potencial de seleção para os caracteres relacionados à qualidade física, já que esses caracteres estão, principalmente, sob controle genético aditivo. Os autores também verificaram correlação altamente positiva entre os caracteres estudados, medidos nos híbridos e nas linhagens parentais.

Com relação ao controle genético do peso de sementes, há indícios de que a variância aditiva seja mais importante do que a variância de dominância (Aguiar, 2003). Holthaus e Lamkey (1995) estudaram quatro populações de ciclos de seleção recorrente distintos e observaram que as estimativas da variância aditiva foram superiores às da variância de dominância, em todos os

ciclos de seleção recorrente. Resultado semelhante foi observado por Malvar et al. (1996).

Já Thompson & Goodman (2006) mostraram a viabilidade de aumentar a densidade dos grãos de milho por meio de sucessivos retrocruzamentos, evidenciando que o controle genético deste caráter deve ser relativamente simples.

Assim, considerando a importância da dureza do grão de milho, estudos que busquem esclarecer os fatores que afetam essa característica utilizando genótipos nacionais são importantes para os programas de melhoramento que visam o desenvolvimento de cultivares com grãos de textura favorável à melhor digestibilidade ruminal.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELRAHMAN, A.A.; HOSENEY, R.C. Basis for hardness in pearl millet, grain sorghum and corn. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.61, n.3, p.232-235, June 1984.

AGUIAR, A.M. **Uso do delineamento III com marcadores moleculares para a análise genética da produção de grãos e seus componentes em milho**. 2003. 127p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BECRAFT, P.W.; ASUNCION-CRABB, Y. Position cues specify and maintain cell fate in maize endosperm development. **Development**, v.127, n.18, p.4039-1048, 2000.

BECRAFT, P.W. Cell fate specification in the cereal endosperm. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, London, v.12, n.5, p387-394, Oct. 2001.

BIGNOTTO, E.A. **Seleção gamética por meio da posição de semente na espiga de milho**. 2002. 58p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BRIEGER, F.G.; BLUMENSCHHEIN, A. Botânica e origem do milho. In: KRUG, C.A. (Ed.). **Cultura e adubação do milho**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Patassa, 1966. p.81-107.

CANTARELLI, V.S. **Composição química, vitreosidade e digestibilidade de diferentes híbridos de milho para suínos**. 2003. 39p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CANTARELLI, V.S.; FIALHO, E.T.; SOUZA, R.V.; FREITAS, R.T.F.; LIMA, J.A.F. Composição química, vitreosidade e digestibilidade de diferentes híbridos de milho para suínos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.3, p.860-864, maio 2007.

CÁRCOVA, J.; ADRIEU, B.; OTEGUI, M.E. Silk growth in maize: relationship with flower development and pollination. **Crop Science**, Madison, v.43, p.914-920, 2003.

CÁRCOVA, J.; OTEGUI, M.E. Ovary growth and maize kernel set. **Crop Science**, Madison, v.47, p.1104-1110, 2007.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CEREDA, M.P. **Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. 539p. 2 v.

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, n.3, p.223-243, Mar. 1992.

CORREA, C.E.S. **Silagem de milho ou cana-de-açúcar e o efeito da textura do grão de milho no desempenho de vacas holandesas**. 2001. 102p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CORREA, C.E.S.; SHAVER, R.D.; PEREIRA, M.N.; LAUER, J.G.; KOHN, K. Relation between corn vitreousness and ruminal in-situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.11, p.3008-301, 2002.

DOMBRINK-KURTZMAN, M.A.; BIETZ, J.A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, Saint. Paul, v.70, n.1, p.105-108, Jan./Feb. 1993.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: _____. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p.21-54.

FORNASIERI FILHO, D.A. **cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 1992. 273p.

GIBBON, B.C.; LARKINS, B. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. **Trends in genetics: DNA differentiation & development**, Amsterdam, v.21, n.4, p.227-233, Apr. 2005.

GOODMAN, M.M.; SMITH, J.S C. Botânica. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.39-78.

GREECH, R.G. Genetic control of carbohydrate synthesis in maize endosperm. **Genetics**, v.52, n.6, p.1175-1186, Dec. 1965.

HABBEN, J.E.; KIRLEIS, A.W.; LARKINS, B.A. The origin of lysinecontaining proteins, in *opaque-2* maize endosperm. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.23, n.4, p.825-838, Nov. 1993.

HALLAUER, R.A.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University, 1988. 468p.

HOLTHAUS, J.F.; LAMKEY, K.R. Response to selection and changes in genetic parameters for 13 plant ear traits in two maize recurrent selection programs. **Maydica**, Bergamo, v.40, p.357-370, 1995.

KIESSELBACH, T.A. **The structure and reproduction of corn**. 2.ed. Lincoln: University of Nebraska, 1980. 96p.

KNIEP, K.R.; MASON, S.C. Kernel breakage and density of normal and *opaque-2* maize grain as influenced by irrigation and nitrogen. **Crop Science**, Madison, v.29, n.1, p.159-163, Jan./Feb. 1989.

KOTARSKI, S.F.; WANISKA, R.D.; THURN, K.K. "Starch hydrolysis by the ruminal microflora." **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.122, n.1, p.178-190, Jan. 1992.

JAMES, M.G.; DENYER, K.; MYERS, A.M. Starch synthesis in the cereal endosperm. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.6, n.3, p.215-222, June 2003.

JOHNSON, D.Q.; RUSSEL, W.A. Genetic variability and relationships of physical grains-quality traits in the BBS population of maize. **Crop Science**, v.22, p.2179-2182, July/Aug. 1982.

JOSÉ, S.C.B.R.; PINHO, E.V.R.von; PINHO, R.G.A.von; RAMALHO, M.A.P.; SILVA FILHO, J.L. Características físicas do pericarpo de sementes de milho associadas com a tolerância à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.125-131, jun. 2005.

LANDRY, J.; DELHAYE, S. Influence of genotype and texture on zein content in endosperm of maize grains. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.151, n.3, p.349-356, Aug. 2007.

LEE, K.M.; HERRMAN, T.J.; DAVID, J.L.; JACKSON, S. Classification and prediction of maize hardness-associated properties using multivariate statistical analyses. **Journal of Cereal Science**, London, v.41, n.1, p.85-93, 2005.

LI, L.; BLANCO, M.; JANE, J. Physicochemical properties of endosperm and pericarp starches during maize development. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.67, n.4, p.630-639, Feb. 2007.

LI, P.X.P.; HARDACRE, A.K.; CAMPANELLA, H.; KIRKPATRICK, K.J. Determination of endosperm characteristics of 38 corn hybrids using the stentvert hardness test. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.73, n.4, p. 466-471, Aug. 1996.

LIMA, J.L. **Controle genético do florescimento em milho**. 2006. 56p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LIMA, J.L.; SOUZA, J.C.; MACHADO, J.C.; RAMALHO, M.A.P. Controle genético da exigência térmica para o início do florescimento em milho. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.1, p.127-131, 2008.

LOPES, M.A.; LARKINS, B. Endosperm origin, development, and function. **The Plant Cell**, Rockville, v.5, n.10, p.1383-1399, Oct. 1993.

LUNA, S.S.; FIGUEROA, J.; BALTASAR, B.; GOMES, R.; TOWNSEND, R.; SCHOPER, J.B. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. **Crop Science**, Madison, v.41, n.5, p.1551-1557, Sept./Oct. 2001.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2006. 10p. (Circular técnica, 76).

MAGALHÃES, P.C.; PAIVA, E. Fisiologia da produção. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. Brasília: EMBRAPA, 1993. p.85-95.

MCALLISTER, T.A.; PHILLIPPE, R.C.; RODE, L.M.; CHENG, K.J. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.1, p.205-212, 1993.

MCSTEEN, P.; LAUDENCIA-CHINGCUANCO, D.; COLASANTI, J. A floret by any other name: control of meristem identity in maize. **Trends in Plant Science**, London, v.5, n.2, p.61-66, Feb. 2000.

MERCER, J.R. **Implicações do fenômeno Xênia nos programas de melhoramento de milho**. 2001. 53p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MESTRES, C.; LOUIS-ALEXANDRE, A.; MATENCIO, F. Dry-milling properties of maize. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.68, n.1, p.51-56, Feb. 1991.

MOTTO, M.; DI FONZO, N.; HARTINGS, H.; MADDALONI, M.; SALAMINI, P.; SOAVE, C.; THOMPSON, R.D. Regulatory genes affecting maize storage protein synthesis. **The Plant Journal for Cell and Molecular Biology**, Oxford, v.6, n.1, p.87-1989.

NEUFFER, M.G.; COE, E.H.; WESSLER, S.R. **Mutants of maize**. New York: Cold Spring Harbor, 1997, 468p.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R.D.; COORS, J.G.; SAPIENZA, D.; CORREA, C.E.S.; LAUER, J.G.; BERZAGHI, P. Relationships between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. I. Development of near-infrared reflectance spectroscopy calibrations. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, n.3-4, p. 247-258, 2008.

OLSEN, O.A. Endosperm development: cellularization and cell fate specification. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.52, p.233-267, June 2001.

OLSEN, O.A.; POTTER, R.A.; KALLA, R. Histo-differentiation and molecular biology of developing cereal endosperm. **Seed Science Research**, Wallingford, v.2, n.2, p.117-131, June 1992.

ORTEGA, E.I.; BATES, L.S. Biochemical and agronomic studies of two modified hard endosperm opaque-2 maize (*Zea mays*) populations. **Cereal Chemistry**, Saint. Paul, v.60, n.2, p.107-111, Mar./Apr. 1983.

PAES, M.C.D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2006. (Circular técnica, 75).

PATERNIANI, E.; Viégas, G.P. **Melhoramento e produção do milho no Brasil**. São Paulo: Fundação Cargill, 1978. 2 v., cap.6, p.215-274.

PEREIRA, M.N.; PINHO, R.G. von; BRUNO, R.G.; CALESTINE, G.A. Ruminant degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.61, n.4, p.358-363, July 2004.

PEREIRA, R.C. **Relação entre características estruturais e bioquímicas e a Textura do grão de milho.** 2006. 54p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the biochemical and physical characteristics of the maize grain on ruminal starch degradation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.46, n.10, p.4287-4291, Sept. 1998.

PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on *in situ* degradation of starch in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.8, p.2178-2184, Aug. 1998.

POMERANZ, Y.; CZUCHAJOWSKA, Z.; MARTIN, C.R.; LAI, F.S. Determination of corn hardness by the Stenvert hardness tester. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.62, n.2, p.108-112, Apr. 1985.

PRATT, R.C.; PAULIS, J.W.; MILLER, K.; NELSEN, T.; BIETZ, J.A. Association of zein classes with maize kernel hardness. **Cereal Chemistry, Saint Paul**, v.72, n.2, p.162-167, Mar./Apr. 1995.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária.** Lavras: UFLA, 2008. 464p.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. Como a planta de milho de milho se desenvolve. **Arquivo do Agrônomo**, São Paulo, n.15, p.1-20, set. 2003.

SILVA, A.A.; PRADO, B.M.F.P; HAUSCHILD, L.; GARCIA, G.G.; LOVATTO, P.A. Digestibilidade e balanços metabólicos da silagem de grãos úmidos de milho para suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, jul. 2005.

SHULL, J.M. **Developmental study of a hard, intermediate and soft variety of sorghum.** 1988. 85p. Dissertation (Masters) - Purdue University, West Lafayette.

SHULL, J.M.; CHANDRASHEKAR, A.; KIRLEIS, A.W.; EJETA, G. Development of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) endosperm in varieties of varying hardness. **Food Structure**, Chicago, v.9, n.3, p.253-267, Sept. 1990.

SILVA, N.O. **Controle genético de características associadas à qualidade de sementes de milho**. 2006. 92p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SMITH, C.W; BETRÁN, J.; RUNGE, E.C.A. **Corn**: origin, history, technology and production. Hoboken: J. Wiley, 2004. 968p.

SOAVE, C.; SALMINI, F. Organization and regulation of zein genes in maize. **Phylogical Transactions of ht Society of London**, Oxford, v.304, n.1120, p.341-347, 1984.

STYLES, E.D.; SINGLA, C. Pollen tube growth in maize. **Maydica**, Bergamo, v.32, n.1, p.139-150,1987.

SWANSON, R.; EDLUND, A.F.; PREUSS, D. Species specificity in pollen-pistil interactions. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.38, p.793-818, Dec. 2004.

THOMPSON, D.L.; GOODMAN, M.M. Increasing Kernel Density for Two Inbred Lines of Maize. **Crop Science**, v.46, n.5, p.2179-2182, Sept. 2006.

TURNBULL, K.M.; RAHMAN, S. Endosperm Texture in Wheat. **Journal of Cereal Science**, London, v.36, n.3, p.32-337, Nov. 2002.

VIANA, F.M.S.; SILVEIRA, M.G.; PACHECO, C.A.P.; CRUZ, C.D.; CARVALHO, C.R. Hibridação em milho. In: BORÉM, A. **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. p.401-426.

VILLAX, E.; NUNES, M.G.H. Notas acerca das inflorescências, floração e fecundação do milho (*Zea Mays* L.). **Melhoramento**, Elvas, v.6, p.115-148, 1953. Disponível em: <http://www.iniap.min-agricultura.pt/resultado_descritivo_2.aspx?id_publicacao=3440&uni=6>. Acesso em: 5 mar. 2008.

WALLACE, J.C.; LOPES, M.A.; PAIVA, E.; LARKINS, B.A. New methods for extraction and quantification of zeins reveal a high content of gama zein in modified opaque-2 maize. **Plant Physiology**, Rockville, v.92, n.1, p. 191-196, Jan. 1990.

WATSON, S.A. **Corn**: chemistry and technology. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1987. p.53-82.

CAPÍTULO 2

ULTRAESTRUTURA E VITREOSIDADE DOS ENDOSPERMAS DE MILHOS TROPICAIS DIFERINDO NA DUREZA

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de comparar a textura do endosperma das variedades de milho Cunha e Cristal e verificar se ocorrem diferenças entre elas com relação à percentagem de vitreosidade dos grãos em comparação com híbridos comerciais utilizados no Sul de Minas Gerais. Para a avaliação do arranjo e do formato dos grânulos de amido no endosperma das variedades Cunha e Cristal, amostras de grãos da região mediana de cinco espigas foram fixadas e, posteriormente, analisadas com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura. A vitreosidade das duas variedades e de três testemunhas, duas com grãos tipo duro (XB8010 e P30F33) e uma com grãos dentados (AG5011), foi determinada pelo método de dissecação manual. Constatou-se que a textura do endosperma das variedades tropicais Cristal e Cunha é distinta. A variedade Cunha apresentou maior quantidade de grânulos de amido com aspecto arredondado e espaços entre si, enquanto na variedade Cristal predominaram grânulos poligonais, compactados e envoltos por matriz proteica. Quanto à vitreosidade, a variedade Cristal possui percentagem semelhante à dos híbridos XB8010 e P30F33, sendo, portanto, considerada muito dura. A variedade Cunha apresentou a menor estimativa de vitreosidade entre as cultivares avaliadas. Os resultados mostraram que a vitreosidade dos grãos é uma boa alternativa para a confirmação da classificação visual da dureza dos híbridos comerciais realizada pelas empresas.

ABSTRACT

The present work aimed to compare the endosperm texture in the maize varieties Cunha and Cristal and to verify whether there are differences between them as to grain vitreousness percentage compared with commercial hybrids extensively grown in the South of Minas Gerais State, Brazil. To evaluate the arrangement and format of starch granules in the endosperm of the varieties Cunha and Cristal, grain samples from the medial region of five ears were fixed and later analyzed using a scanning electron microscope. Vitreosity in those two varieties and three controls, two with hard (XB8010 and P30F33) and one with dent grains (AG5011), was assessed through manual dissection. Endosperm texture in the tropical varieties Cristal and Cunha is different. The latter had higher quantity of starch granules of round aspect and spaced from one another, whereas in Cristal variety there was predominance of polygonal granules, compacted and covered with a protein matrix. As to vitreosity, Cristal variety has a percentage similar to that of the hybrids XB8010 and P30F33 and therefore is considered very hard. Cunha variety had the lowest vitreosity assessment among the evaluated cultivars. Results indicated that grain vitreosity is a good alternative to confirm the visual classification of hardness for commercial hybrids done by companies.

1 INTRODUÇÃO

O Sul de Minas Gerais se caracteriza por ter uma das principais bacias leiteiras do país. Entre as fontes de alimento utilizadas no arraçamento dos animais, o milho se destaca. A produtividade média de grãos é alta em comparação com a de outras regiões do estado. Contudo, ocorre grande diversidade no sistema de manejo na produção desse cereal. Um grande contingente de agricultores utiliza todas as tecnologias disponíveis, enquanto, no outro extremo, estão os agricultores que ainda utilizam variedades. Algumas dessas variedades permanecem em cultivo por dezenas de anos. Elas passam entre as gerações de agricultores. Pelo menos duas dessas variedades se destacam, a Cristal, também denominada de milho-ferro e a Cunha. As plantas dessas variedades são bem características de milhos tropicais, excessivamente altas, com inserção de espigas elevada e tardias. Diferem também com relação ao tipo de grãos. A variedade Cristal possui grãos do tipo duro, enquanto a Cunha possui grãos dentados.

Informações disponíveis na literatura apontam que a digestibilidade dos milhos pode diferir em função da dureza dos grãos. Os grãos mais moles, dentados, apresentam maior digestibilidade (Cantarelli et al., 2007). Considerando que as duas variedades mencionadas anteriormente têm aspecto dos grãos que indica grande variação na dureza, é provável que elas difiram na digestibilidade e, em consequência, por que razão foram mantidas durante tanto tempo pelos agricultores?

Para responder a essas e a outras indagações, primeiramente deve-se verificar se a estrutura do endosperma dessas duas variedades tropicais é diferente. Essas informações já estão disponíveis para milhos temperados (Ngonyamo-Majee et al., 2008). Contudo, há relatos de que a classificação da dureza realizada pelos melhoristas de condições tropicais e temperadas é

diferente. Em trabalho realizado por Pereira et al. (2004), comparando híbridos brasileiros e americanos com diferentes texturas do endosperma, foi constatado que as cultivares brasileiras consideradas mais dentadas, menos vítreas, apresentaram maior vitreosidade que as temperadas classificadas como menos dentadas.

Desse modo, esse trabalho foi realizado visando comparar a textura do endosperma de grãos das variedades de milho tropicais Cunha e Cristal e, ao mesmo tempo, verificar se ocorre diferença entre elas na porcentagem de vitreosidade dos grãos, em comparação com híbridos comerciais utilizados no Sul de Minas Gerais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Departamento de Biologia e as análises microscópicas realizadas no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, localizada em Lavras, na região sul do estado de Minas Gerais.

Foram utilizadas duas variedades de milho contrastantes para os caracteres cor, tamanho e dureza de grãos. A variedade Cristal possui grãos brancos, duros, com aspecto arredondado e ausência de indentação. A variedade Cunha possui grãos amarelos, dentados, achatados e presença de indentação.

O arrançamento e a forma dos grânulos de amido do endosperma foram avaliados utilizando-se microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para isso, foram coletados grãos da região mediana de cinco espigas das variedades Cristal e Cunha. Os grãos foram partidos ao meio, com auxílio de uma lâmina de aço inox. Em seguida, estes foram fixados em Karnovsky, por 21 horas e pós-fixados, por 2 horas, em tetróxido de ósmio 2%, desidratados em uma série de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, esta última por três vezes) e levados ao aparelho de ponto crítico. Posteriormente, as amostras foram fixadas em suportes de alumínio (“stubs”), por meio de uma fita de carbono dupla face e submetidas a uma cobertura com ouro.

Para a determinação da vitreosidade dos grãos, além das variedades Cunha e Cristal, foram avaliadas três testemunhas: o híbrido AG5011, que possui grãos classificados pela empresa que o comercializa como dentados e os híbridos XB8010 e P30F33, como duros. A vitreosidade dos grãos foi medida pelo método de dissecação manual, conforme descrito por Dombrink-Kurtzman & Bietz (1993). Para diminuir a variação da posição do grão na espiga, foram selecionados, aleatoriamente, 100 grãos de cada híbrido ou variedade e divididos em 10 grupos. A vitreosidade foi estimada em um grão de cada grupo,

selecionado aleatoriamente, o qual foi imerso em água destilada, por 3 minutos e, posteriormente, seco com papel toalha. O pericarpo e o embrião foram removidos com auxílio de um bisturi, deixando-se apenas o endosperma, o qual foi pesado (endosperma total). Em seguida, o endosperma farináceo foi removido e o peso do endosperma vítreo restante foi expresso como porcentagem do endosperma total.

Os dados de porcentagem de endosperma vítreo em relação ao endosperma total foram submetidos à análise de variância, adotando-se o seguinte modelo: $Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$, em que Y_{ij} : valor observado no i -ésimo tratamento e na j -ésima repetição, m : média geral, t_i : efeito da i -ésimo tratamento, e_{ij} : efeito do erro experimental.

A análise foi efetuada por meio pacote estatístico GENES (Cruz, 2001). As médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott & Knott (1974).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização do tipo de grão das variedades Cristal e Cunha, disponível até o momento, foi realizada apenas pelo método visual. Os grãos da variedade Cristal são considerados do tipo duro, por apresentarem ausência de indentação, isto é, extremidade superior arredondada e lisa. Já os grãos da variedade Cunha são considerados do tipo dentado, por possuírem indentação, ou seja, extremidade superior enrugada (Figura 1).

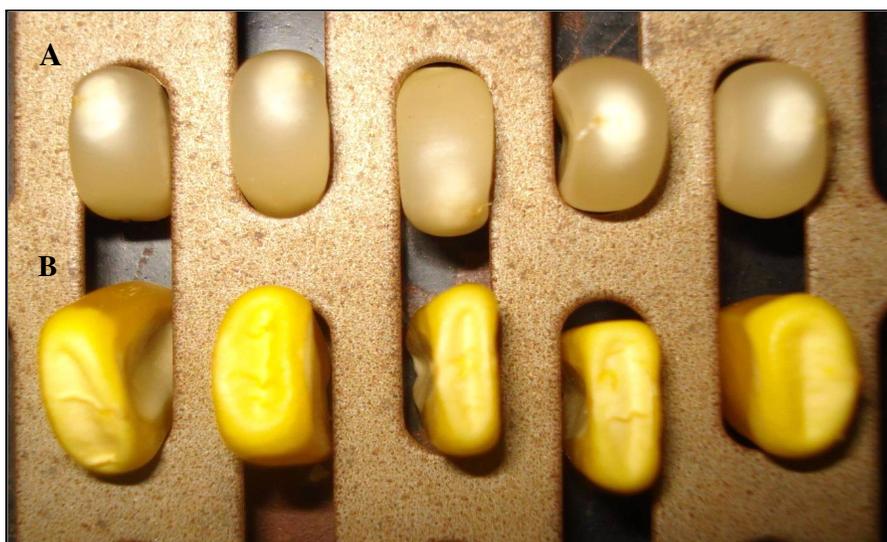


FIGURA 1(A) Ausência de indentação nos grãos da variedade Cristal.
(B) Presença de indentação nos grãos da variedade Cunha.

Detalhes de endosperma vítreo da variedade Cristal e farináceo da variedade Cunha podem ser observados na Figura 2, em que se pode notar que os endospermas das duas variedades são realmente bem distintos. O endosperma da Cunha possui grânulos de amido arredondados, espaçados entre si e com ausência de matriz proteica contínua (A, C e E). O endosperma da variedade Cristal justifica a denominação de milho-ferro, ou seja, os grânulos de amido são

muito compactados, poligonais e envolvidos por matriz proteica (B, D e F). As características observadas no endosperma das variedades com grãos do tipo duro e dentado estão de acordo com as descritas na literatura (Fornasieri Filho, 1992; Smith et al., 2004).

A matriz proteica, ao que tudo indica, limita a digestão enzimática do amido, sendo, portanto, responsável pelas diferenças na degradabilidade ruminal dos grãos (Kotarski et al., 1992). A proteína do endosperma vítreo é relativamente resistente à entrada de água e à ação de enzimas hidrolíticas. Sendo assim, a interação amido-proteína influencia na digestibilidade do amido, podendo reduzir sua suscetibilidade à hidrólise enzimática. Em grãos duros, os grânulos de amido podem estar completamente embebidos em uma matriz proteica, dificultando a hidrólise enzimática (Pereira et al., 2004).

Para confirmar as informações ultraestruturais foi estimada a porcentagem de endosperma vítreo em relação ao endosperma total. Pelos dados da Tabela 1 pode-se observar que, com relação à vitreosidade, as duas variedades são bem diferentes. A Cristal apresentou mais de 80% do endosperma vítreo, ao passo que, na Cunha, esse número foi em torno de 50%. Vale ressaltar que a variedade Cunha apresentou porcentagem de vitreosidade inferior ao híbrido AG5011, que é amplamente utilizado pelos pecuaristas do Sul de Minas, por considerá-lo de boa digestibilidade. Destaca-se também que os outros dois híbridos apresentam vitreosidade equivalente à da Cristal, sendo, portanto, muito dura.

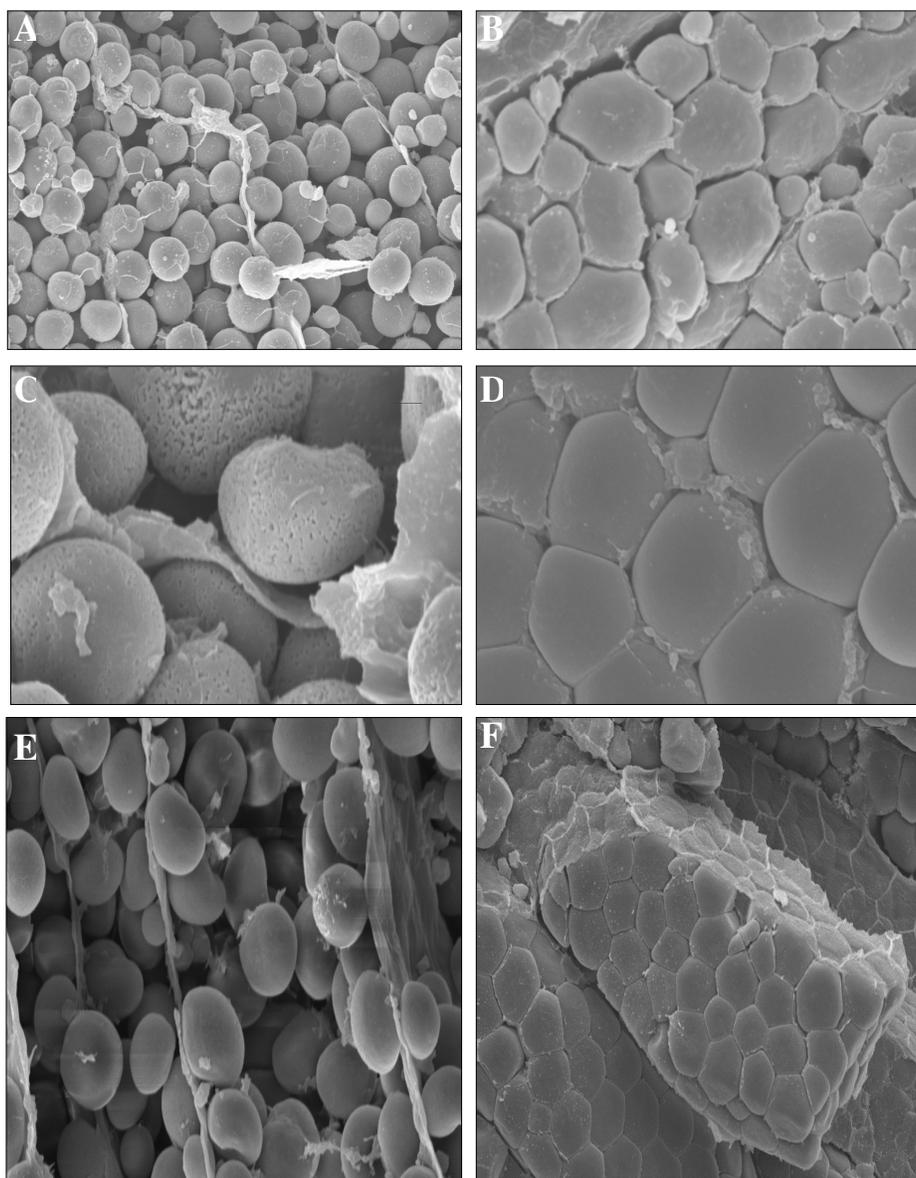


FIGURA 2 Ultramicrografia do endosperma de variedades de milho diferindo na dureza dos grãos. A, C e E - variedade Cunha. B, D e F - variedade Cristal.

TABELA 1 Valores médios da vitreosidade de grãos de milho.

Cultivares	Vitreosidade*
Cristal	82,57A
Cunha	53,52C
XB8010	76,10A
P30F33	81,34A
AG5011	67,13B

* Os tratamentos com a mesma letra foram colocados no mesmo grupo, pelo teste de Scott Knott (1974), a 5% de probabilidade.

No passado não muito distante, os programas de melhoramento de híbridos do Brasil concentravam sua atenção na obtenção de cultivares com grãos duros. Por essa razão, há maior disponibilidade no mercado de grãos classificados como duros ou semiduros (Cruz & Pereira Filho, 2008). A se confirmar que os milhos mais dentados apresentam maior digestibilidade, como tem sido recentemente relatado na literatura (Correa et al., 2002), a variedade Cunha é um excelente germoplasma para se extrair linhagens visando à obtenção de híbridos dentados.

Ao que tudo indica, as empresas utilizam linhagens temperadas com essa finalidade. O problema é que elas são mal adaptadas e o processo torna-se mais demorado. Considerando a adaptação da variedade Cunha, a obtenção de bons híbridos dentados poderia ser mais rápida.

Finalizando, os resultados da vitreosidade e do arranjo dos grânulos de amido do endosperma confirmaram a classificação contrastante da textura dos grãos das variedades estudadas. Os dados de vitreosidade permitiram, ainda, uma alteração na classificação do grau de dureza dos grãos, realizada pelas empresas de sementes, uma vez que possibilitaram diferenciar três classes de dureza, isto é, tipo duro (Cristal, XB8010 e P30F33), semidentado (AG5011) e dentado (Cunha).

4 CONCLUSÕES

1. A textura do endosperma das variedades tropicais Cristal e Cunha é distinta.
2. A vitreosidade dos grãos é uma boa alternativa para a confirmação da classificação visual da dureza dos híbridos comerciais realizada pelas empresas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CANTARELLI, V.S.; FIALHO, E.T.; SOUZA, R.V.; FREITAS, R.T.F.; LIMA, J.A.F. Composição química, vitreosidade e digestibilidade de diferentes híbridos de milho para suínos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.3, p.860-864, maio 2007.

CORREA, C.E.S.; SHAVER, R.D.; PEREIRA, M.N.; LAUER, J.G.; KOHN, K. Relation between corn vitreousness and ruminal in-situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.11, p.3008-3012, 2002.

CRUZ, C.D. **Programa GENES**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, MG: UFV, 2001. 542p.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A. **Características agronômicas das cultivares de milho disponíveis no mercado na safra 2008/2009**. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/tabela1-caracteristicas.html>>. Acesso em: 7 fev. 2009.

DOMBRINK-KURTZMAN, M.A.; BIETZ, J.A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, Saint. Paul, v.70, n.1, p.105-108, Jan./Feb. 1993.

FORNASIERI FILHO, D. **A cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 1992. 273p.

KOTARSKI, S.F.; WANISKA, R.D.; THURN, K.K. "Starch hydrolysis by the ruminal microflora." **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.122, n.1, p.178-190, Jan. 1992.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R.D.; COORS, J.G.; SAPIENZA, D.; CORREA, C.E.S.; LAUER, J.G.; BERZAGHI, P. Relationships between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. I. Development of near-infrared reflectance spectroscopy calibrations. **Animal feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, n.3-4, p.247-258, 2008.

PEREIRA, M.N.; PINHO, R.G. von; BRUNO, R.G.; CALESTINE, G.A. Ruminal degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.61, n.4, p.358-363, July 2004.

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

SMITH, C.W.; BETRÁN, J.; RUNGE, E.C.A. **Corn:** origin, history, technology and production. Hoboken: J. Wiley, 2004. 968p.

CAPÍTULO 3

CONTROLE GENÉTICO DE CARACTERES ASSOCIADOS AO FORMATO E À DUREZA DE GRÃOS DE MILHO

RESUMO

Informações a respeito do controle genético de caracteres associados ao formato e dureza dos grãos foram obtidas a partir do cruzamento de duas variedades, Cunha e Cristal, típicas de milhos tropicais. As variedades foram cruzadas, obtendo-se as gerações F_2 e F_3 . Para a obtenção dos dados foram coletados grãos na parte central das espigas e avaliados o comprimento, a largura, a espessura, a massa seca e a dureza, essa última por meio da densidade e da resistência à força de compressão imposta por um texturômetro. A partir das estimativas dos componentes genéticos de média e de variância, pode-se concluir que houve predomínio de interações alélicas de dominância e de baixa herdabilidade no estudo do controle genético de caracteres associados ao formato e à massa seca dos grãos. Para o caráter dureza dos grãos, avaliado pela resistência à força de compressão, a interação alélica predominante foi aditiva e a herdabilidade alta, condição essa favorável para a seleção.

ABSTRACT

Information on the genetic control of characters associated with grain shape and hardness was obtained from the breeding between two varieties, Cunha and Cristal, typical of tropical maize. The varieties were bred and F₂ and F₃ generations were produced. Grains at the central part of the ears were collected and evaluated as to length, width, thickness, dry mass and hardness; the latter was assessed through density and resistance to the compression force by a texturometer. Based on the assessment of the genetic compounds of mean and variance, there was predominance of allelic interactions of dominance and low heritability in the genetic control study for characters associated with grain shape and dry mass. As regards grain hardness, evaluated through the resistance to compression force, the predominant allelic interaction was additive and heritability was high, a favorable condition to selection.

1 INTRODUÇÃO

O milho é, provavelmente, a espécie da qual se dispõe do maior número de literatura abordando o controle genético de caracteres (Neuffer et al., 1997). Entretanto, para alguns caracteres que afetam o valor comercial, ainda há escassez de informações. Por exemplo, praticamente não foram encontrados estudos sobre o controle genético do formato dos grãos. Poucas informações, restritas a milhos temperados, foram encontradas a respeito da dureza dos grãos (Johnson & Russel, 1982; Thompson & Goodman, 2006).

Esses caracteres são importantes, pois o milho é uma das principais fontes de energia na dieta de ruminantes e monogástricos, havendo relatos de que a degradabilidade do amido varia com a dureza dos grãos (Cantarelli et al., 2007; Ngonyamo-Majee et al., 2008).

Na região sul de Minas Gerais, duas variedades de milho, Cristal e Cunha, diferindo no formato e dureza dos grãos, vêm sendo cultivadas por várias décadas. O conhecimento do controle genético da diferença na forma e na dureza dos grãos destas duas cultivares é importante para futuros trabalhos de melhoramento com milhos tropicais, visando maior degradabilidade dos mesmos.

Do exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de obter informações a respeito do controle genético de caracteres associados ao formato e à dureza dos grãos, utilizando milhos tipicamente tropicais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos Departamentos de Biologia e de Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas duas variedades de milho, fornecidas pelos agricultores do Sul de Minas e mantidas pela UFLA. A variedade Cristal possui grãos com formato arredondado, textura dura e coloração branca. A variedade Cunha apresenta grãos achatados, dentados e amarelos. A multiplicação dessas variedades foi realizada em campos isolados, visando a não contaminação das mesmas.

Na safra 2006/07, cerca de 50 plantas de cada variedade foram utilizadas para a obtenção da geração F_1 . A variedade Cristal foi utilizada como genitor feminino e a variedade Cunha, como genitor masculino. As sementes F_1 , obtidas a partir do cruzamento entre as variedades Cunha e Cristal, foram semeadas em fevereiro de 2007 e autofecundadas para a obtenção das sementes F_2 . O mesmo foi realizado na safra de 2007/08, para a obtenção das sementes F_3 . As espigas das populações foram colhidas individualmente e secadas ao sol, até que os grãos atingissem teor de água de 13%.

Foi retirada uma amostra de grãos da região mediana da espiga dos pais e das gerações F_2 e F_3 para o estudo do controle genético da dureza e da forma dos grãos de milho. O número de indivíduos analisados variou de acordo com o caráter e com a população, e está descrito nas Tabelas de 1 a 6. Os caracteres avaliados foram formato, massa seca e dureza dos grãos.

Para a avaliação do formato dos grãos, com auxílio de um paquímetro digital, foram tomados os dados referentes ao comprimento, largura e espessura dos mesmos, em milímetros. A massa seca dos grãos foi obtida em balança analítica, sendo os dados tomados em miligramas. A avaliação da dureza dos grãos foi realizada utilizando dois métodos distintos, por meio da resistência à força de compressão e da estimativa da densidade dos grãos. A resistência à

força de compressão foi avaliada em um texturômetro, modelo TA-XT 2i, com as seguintes configurações: ponta de probe de 3 mm de diâmetro, velocidade de pré-teste de 3 mm s⁻¹, velocidade de teste de 0,5 mm s⁻¹ e velocidade de pós-teste de 5,0 mm s⁻¹. Os grãos foram levados individualmente ao texturômetro, sendo registrada a força necessária para comprimi-los, a uma taxa de compressão de 0,5 mm, em gramas. Já a densidade de cada grão foi obtida com auxílio de um picnômetro, conforme descrito por Gomes et al. (2004).

Foram estimadas as médias e as variâncias dos genitores e das gerações F₂ e F₃, para cada caráter em estudo. A partir desses dados estimaram-se os componentes de média, empregando-se o método dos quadrados mínimos ponderados. Considerou-se o modelo aditivo-dominante, sem epistasia (Rowe & Alexander, 1980; Mather & Jinks, 1984). Posteriormente, foram estimados os componentes da variância genética e ambiental, utilizando-se o método dos quadrados mínimos ponderados iterativo.

Os componentes de média e de variância foram estimados com auxílio do aplicativo computacional Mapgen (Ferreira & Zambalde, 1997). Foram obtidas também as estimativas da herdabilidade no sentido restrito, para as gerações F₂ ($h_{r_{F_2}}^2$) e F₃ ($h_{r_{F_3}}^2$), utilizando-se os seguintes estimadores (Bernardo,

$$2002): h_{r_{F_2}}^2 = \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_{F_2}^2} \text{ e } h_{r_{F_3}}^2 = 1,5 \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_{F_3}^2}, \text{ em que } \hat{\sigma}_A^2 : \text{variância aditiva, } \hat{\sigma}_{F_2}^2 :$$

variância fenotípica da geração F₂ e $\hat{\sigma}_{F_3}^2$: variância fenotípica da geração F₃.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o estudo do controle genético, é necessário que os genitores não segregam para o caráter em questão. Os dois genitores utilizados neste trabalho são variedades de polinização livre e, portanto, contêm locos em homozigose e heterozigose. Entretanto, pelo que se observa ao longo do tempo não ocorre segregação para esses caracteres nos genitores.

Outra observação é que, especialmente para os caracteres associados ao tamanho, existe grande variação entre os grãos de uma mesma espiga de milho, independente de sua constituição genotípica. Isso decorre em função da maneira como são emitidos os estilos-estigmas. Considerando uma espiga dividida longitudinalmente em quatro partes, os estilos-estigmas que aparecem primeiro são aqueles desenvolvidos no segundo quarto a partir da base da mesma. Posteriormente, aparecem aqueles do terceiro quarto e simultaneamente do quarto basal e do ápice da espiga. Dessa forma, os grãos provenientes dos estilos-estigmas situados na região central da espiga podem ser fecundados primeiro, acumulando maior quantidade de fotoassimilados que aqueles oriundos da região basal e apical (Cárcova et al., 2003; Cárcova & Otegui, 2007). Assim, grande parte da variação entre os grãos de uma mesma espiga deve ser ambiental. Por essa razão, procurou-se, no momento da coleta dos grãos, para a obtenção dos dados, que eles fossem retirados sempre da posição central. Além do mais, como as polinizações foram manuais, deu-se preferência em considerar as espigas sem falhas de polinização, especialmente na região central das mesmas.

Antes de apresentar os resultados, também é importante mencionar que os grãos de milho são formados basicamente por quatro estruturas físicas principais: o pedicelo, responsável, em média, por um percento da massa seca dos grãos; o pericarpo, por cinco percento; o embrião, por 12% e o endosperma,

que corresponde a 82% da massa seca do grão (Carvalho & Nakagawa, 2000). Esses constituintes diferem na sua origem. O embrião e o endosperma são produtos da fertilização; já o pedicelo e o pericarpo são tecidos maternos (Ramalho et al., 2008). Esse fato dificulta o estudo do controle genético dos caracteres que envolvem os grãos. Por exemplo, os grãos da geração F_1 , considerando embrião e endosperma, apresentam xênia. Assim, os fenótipos da geração F_1 , para esses caracteres, se expressam na planta-mãe. Já quando se consideram o pericarpo e o pedicelo, por ser um tecido materno, não possuem xênia e o fenótipo que se expressa depende apenas da constituição do genitor feminino.

Considerando que os caracteres que apresentam xênia são responsáveis por mais de 90% da massa total dos grãos, o estudo do controle genético teve como referência a geração desses caracteres. É provável que o pericarpo, por exemplo, afete o formato dos grãos. Contudo, a sua inclusão no estudo do controle genético, juntamente com o embrião e o endosperma, é difícil porque os constituintes dos grãos estão em gerações diferentes.

Analisando-se, inicialmente, os caracteres associados ao formato dos grãos, isto é, comprimento, largura e espessura, verifica-se que o genitor Cunha possui grãos mais compridos, mais largos e menos espessos que o genitor Cristal (Tabelas 1 a 3). Visualmente, é possível constatar essas diferenças que as estimativas obtidas evidenciam. Observou-se que as médias das populações F_2 e F_3 foram diferentes da média dos pais. Em princípio, esse resultado mostra a existência de dominância no controle dos caracteres.

Essa última observação pode ser constatada por meio das estimativas dos componentes de média (Tabelas 1 a 3). Observa-se que, para a largura dos grãos, a estimativa de d , contribuição dos locos em heterozigose em relação ao ponto médio dos dois genitores homozigotos, quando se considera um único loco, foi diferente de zero e negativa, indicando que a dominância é no sentido de reduzir

a expressão do caráter (Tabela 2). Constatou-se também, realçando o que foi comentado, que o grau médio de dominância (gmd) foi, para todos os três caracteres, diferente de zero (Tabelas 1 a 3). Para a espessura, a estimativa do gmd foi superior a 1.

TABELA 1 Número de indivíduos por população, médias e variâncias, estimativas dos componentes de média e de variância para o caráter comprimento de grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Populações	Nº indivíduos	Média (mm)	Variâncias
Cristal	20	10,42	0,18
Cunha	17	13,77	0,30
F ₂	329	11,14	0,82
F ₃	977	10,98	0,75
Componentes de média ¹	Estimativas	Componentes de variância	Estimativas
<i>M</i>	12,22 (0,25) ²	σ^2_A	0,0985 [0,0890; 0,1095] ³
<i>A</i>	-1,55 (0,25)	σ^2_D	0,4769 [0,4201; 0,5461]
<i>d</i>	1,08 (0,61)	σ^2_E	0,2446 [0,1609; 0,4162]
Gmd	0,70	-	-
R ² (%)	99,99	-	99,76

¹*m*: média dos genótipos homozigóticos; *a*: desvio dos homozigotos em relação ao ponto médio; *d*: desvio do heterozigoto em relação ao ponto médio. ²Erro padrão. ³Limites inferiores e superiores do intervalo de confiança para as variâncias.

TABELA 2 Número de indivíduos por população, médias e variâncias, estimativas dos componentes de média e de variância para largura de grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Populações	Nº indivíduos	Média (mm)	Variâncias
Cristal	20	9,36	0,15
Cunha	20	9,87	0,83
F ₂	357	8,93	0,64
F ₃	956	8,75	0,62
Componentes de média ¹	Estimativas	Componentes de variância	Estimativas
<i>M</i>	9,60 (0,76) ²	σ^2_A	0,0233 [0,0205; 0,0268] ³

Continua...

TABELA 2 Continuação.

Populações	Nº indivíduos	Média (mm)	Variâncias
<i>a</i>	-0,50 (0,76)	σ^2_D	0,1267 [0,1077; 0,1512]
<i>d</i>	-0,10 (1,17)	σ^2_E	0,4900 [0,3273/0,8139]
Gmd	0,2	-	-
R ² (%)	99,97	-	98,53

¹*m*: média dos genótipos homozigóticos; *a*: desvio dos homozigotos em relação ao ponto médio; *d*: desvio do heterozigoto em relação ao ponto médio. ²Erro padrão. ³Limites inferiores e superiores do intervalo de confiança para as variâncias.

Foram obtidas também as estimativas dos componentes de variância (Tabelas 1 a 3). Chama a atenção o fato de que, especialmente para os caracteres largura e espessura, a variância ambiental, proporcionalmente à variância genética, foi expressiva. Esses resultados confirmam a observação anterior de que, em uma espiga, grande parte da variação na forma dos grãos deve ser ambiental. Como já comentado, as diferenças no período de fertilização que contribuem para a distribuição irregular dos fotoassimilados durante o período de enchimento de cada grão favorece a variação nos grãos, mesmo considerando apenas os grãos da região central das espigas.

TABELA 3 Número de indivíduos por população, médias e variâncias, estimativas dos componentes de média e de variância para a espessura de grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Populações	Nº indivíduos	Média (mm)	Variâncias
Cristal	20	4,52	0,17
Cunha	20	3,97	0,25
F ₂	360	4,22	0,28
F ₃	974	4,06	0,25
Componentes de média ¹	Estimativas	Componentes de variância	Estimativas
<i>M</i>	3,99 (0,35) ²	σ^2_A	-0,0166 [-0,015; -0,0192] ³
<i>A</i>	0,03 (0,35)	σ^2_D	0,0866 [0,074/0,1034]

Continua...

TABELA 3 Continuação.

Populações	Nº indivíduos	Média (mm)	Variâncias
<i>d</i>	0,30 (0,70)	σ^2_E	0,2100 [0,1403/0,3488]
gmd	10	-	-
R ² (%)	99,95	-	99,89

¹*m*: média dos genótipos homozigóticos; *a*: desvio dos homozigotos em relação ao ponto médio; *d*: desvio do heterozigoto em relação ao ponto médio. ²Erro padrão. ³Limites inferiores e superiores do intervalo de confiança para as variâncias.

As estimativas da variância de dominância foram diferentes de zero (Tabelas 1 a 3). Observa-se que o limite inferior da estimativa da variância de dominância foi sempre positivo. A magnitude da variância de dominância foi, em todos os três casos, superior à variância aditiva. Esse resultado, em princípio, não era esperado, pois a variância de dominância corresponde aos desvios da equação de regressão linear, utilizada na obtenção da variância aditiva (Bernardo, 2002). Segundo esse autor, o procedimento dos quadrados mínimos tende a minimizar os desvios em relação à reta de regressão. A variância de dominância, por definição, é considerada com menor variação possível entre os valores genotípicos. Assim, a priori, a variância aditiva será sempre maior que a variância de dominância, a menos que as frequências alélicas sejam extremas ou se houver sobredominância. Fica evidente, tanto pelas estimativas dos componentes de média como de variância, que ocorre dominância na expressão desses caracteres.

Deve ser salientado que, como esses caracteres são controlados por vários genes, é esperado que alguns deles estejam ligados. Como as gerações F₂ e F₃ certamente não estão em equilíbrio de ligação, a variância de dominância pode estar superestimada pela ligação, especialmente se ela estiver em repulsão. Kearsey & Pooni (1988) apresentaram a expressão da variância de uma população F₂ ($\sigma^2_{F_2}$), considerando dois locos ligados, A e B:

$$\sigma_{F_2}^2 = \frac{1}{2}a_A^2 + \frac{1}{2}a_B^2 + \delta(1-2R)a_A a_B + \frac{1}{4}d_A^2 + \frac{1}{4}d_B^2 + \frac{1}{2}(1-2R)^2 d_A d_B,$$

em que:

a_A e a_B correspondem ao desvio dos homozigotos, em relação à média, para os locos A e B, respectivamente; d_A e d_B é o desvio dos heterozigotos, em relação à média, para os locos A e B, respectivamente; R é a frequência de recombinação entre os genes A e B e δ é uma variável condicional que assume os valores de +1 para ligação em atração e -1 para ligação em repulsão.

Fica evidente que, quando a ligação está em repulsão, a variância aditiva fica subestimada, ao passo que a de dominância é superestimada, podendo levar a uma estimativa do gmd em que $d > a$, ou seja, sobredominância. Segundo Hallauer & Miranda (1988); Gardner & Lonquist (1959) avaliaram a produtividade de grãos de milho da população F_2 e obtiveram estimativas de gmd=1,05. Ao avançarem essa população por várias gerações de recombinação, até que a mesma alcançasse o equilíbrio, o gmd reduziu para 0,59. Diante do exposto, pode-se inferir que pelo menos parte da magnitude do gmd estimado deve ser função da forte ligação em repulsão dos genes envolvidos no controle desses caracteres.

Não foram encontradas, na literatura sobre o assunto, estimativas de componentes de variância e de média para caracteres associados ao formato dos grãos. Contudo, a presença de heterose para caracteres relacionados à germinação e à emergência já foi relatada em algumas situações (Gomes et al., 2000; José et al., 2004; Hoecher et al., 2006; Souza et al., 2008). É provável que parte dessa heterose possa estar associada a caracteres relacionados ao formato dos grãos, o que está de acordo com os resultados relatados anteriormente.

Os dois genitores diferiram para massa de grãos, que é outro caráter de interesse nos programas de melhoramento (Tabela 4). A massa de grãos foi

superior no genitor Cunha, o que, até certo ponto, está de acordo com os comentários anteriores a respeito do comprimento e da largura dos grãos. Como já salientado, mais de 90% da massa de grãos deve-se ao embrião e, principalmente, ao endosperma (Carvalho & Nakagawa, 2000). Depreende-se, então, que o genitor Cunha possui mais massa no seu endosperma e embrião que o Cristal.

As estimativas dos componentes de média mostram que a estimativa de d foi superior à estimativa de a (Tabela 4). Infere-se que a massa dos grãos de milho deve manifestar grande heterose. Quanto às estimativas da variância, os resultados também foram coerentes com os relatados para os componentes de média. A estimativa de variância de dominância foi bem superior à variância aditiva. Nesse caso, assim como comentado anteriormente, a presença de ligação também pode estar superestimando as estimativas de variância de dominância e subestimando as aditivas. É interessante comentar que a variância do erro foi de magnitude inferior à variância de dominância. Assim, a relação $\frac{\sigma_E^2}{\sigma_G^2}$, para a massa dos grãos, é menor que a observada nos demais caracteres.

TABELA 4 Número de indivíduos por população, médias e variâncias, estimativas dos componentes de média e de variância para o caráter massa de grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Populações	Nº indivíduos	Média (mg)	Variâncias
Cristal	20	0,21	0,03
Cunha	20	0,35	0,06
F ₂	336	0,32	0,25
F ₃	763	0,30	0,22
Componentes de média ¹	Estimativas	Componentes de variância	Estimativas
M	0,2982 (0,04) ²	σ_A^2	0,0266 [0,0242; 0,0295] ³
A	-0,0565 (0,04)	σ_D^2	0,1733 [0,1530; 0,1980]

Continua...

TABELA 4 Continuação.

Populações	No indivíduos	Média (mg)	Variâncias
<i>d</i>	0,1874 (0,11)	σ^2_E	0,0500 [0,0330; 0,0844]
Gmd	3,31	-	-
R ² (%)	99,80	-	99,45

¹*m*: média dos genótipos homozigóticos; *a*: desvio dos homozigotos em relação ao ponto médio; *d*: desvio do heterozigoto em relação ao ponto médio. ²Erro padrão. ³Limites inferiores e superiores do intervalo de confiança para as variâncias.

Tem sido constatado que a heterose para produtividade em milho é grande. Em várias oportunidades, foi obtida a contribuição dos locos em homozigose ($m + a$) e dos locos em heterozigose (d). Em levantamento apresentado por Ramalho et al. (2003), envolvendo 155 populações de milho, as estimativas de d , contribuição dos locos em heterozigose, corresponderam, em média, a 70,1%, ao passo que em $m + a$, contribuição dos locos em homozigose, apenas 29,95%. Também Hallauer & Miranda Filho (1988) apresentaram resultados de 24 estimativas dos componentes da variância genética para a produtividade de grãos em milho, em que, na média, a relação σ^2_D/σ^2_A foi praticamente 1, indicando a ocorrência de heterose acentuada para essa característica. É provável que parte expressiva desta heterose na produtividade de grãos de milho deva ser atribuída à heterose na massa dos grãos. Isto porque a produtividade de uma planta é função do produto do número de grãos pela massa dos grãos.

Outro caráter muito importante é a dureza dos grãos de milho. Ela tem sido avaliada, pela indústria e empresas produtoras de sementes, considerando apenas o aspecto visual dos grãos. Assim, os grãos são classificados por meio do escore de identificação, isto é, a ausência de identificação caracteriza grão duro, enquanto grãos com identificação profunda são considerados dentados.

Entretanto, essa avaliação visual tem sido questionada por observar apenas o pericarpo, não tendo como verificar visualmente o endosperma

(Figueiredo et al., 2008). Uma alternativa para avaliar a dureza dos grãos é a força de compressão estimada pelo texturômetro.

Por meio da força de compressão, comprovou-se que o genitor Cristal é mais duro, ou seja, apresentou maior média que o genitor Cunha (Tabela 5). Veja que a média da força de compressão da geração F₂ foi semelhante a da geração F₃. Já a média dos genitores (5.810,75) foi 1,82% acima da média das duas gerações segregantes (5.706,69). Em princípio, esses resultados indicam ausência de dominância no controle desse caráter. A comprovação desta observação foi verificada por meio da estimativa de $\hat{\sigma}_D^2$, que foi praticamente nula. Contudo, houve discrepância com relação à estimativa de d , que foi superior a contribuição de a . Entretanto, essas estimativas estiveram associadas a erros elevados, não diferindo de zero, a 95% de probabilidade.

TABELA 5 Número de indivíduos por população, médias e variâncias, estimativas dos componentes de média e de variância para a resitência à força de compressão de grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Populações	Nº indivíduos	Média (g)	Variâncias
Cristal	19	6147,07	11202,79
Cunha	12	5474,43	25231,91
F ₂	320	5683,51	159133,85
F ₃	2940	5729,88	152405,96
Componentes de média ¹	Estimativas	Componentes de variância	Estimativas
m	5726,29 (253,71) ²	σ_A^2	90879,98 [66811,79; 130846,71] ³
a	251,89 (253,71)	σ_D^2	0,00
d	-874,29 (677,54)	σ_E^2	22600,8381 [14526,19; 31947,34]
gmd	3,47	-	-
R ² (%)	99,98	-	98,15

¹ m : média dos genótipos homozigóticos; a : desvio dos homozigotos em relação ao ponto médio; d : desvio do heterozigoto em relação ao ponto médio. ²Erro padrão. ³Limites inferiores e superiores do intervalo de confiança para as variâncias.

A dureza dos grãos também pode ser medida por meio da densidade. A variedade Cristal apresentou maior densidade que a Cunha (Tabela 6). Esses resultados confirmam as estimativas de correlação alta e positiva entre densidade e dureza dos grãos (Silva et al., 2000). As médias das gerações F₂ e F₃ foram semelhantes entre si e semelhantes à média do genitor Cunha, indicando ocorrência de dominância no sentido de menor densidade. As estimativas dos componentes de média e variância confirmam essa observação.

Em princípio, esses resultados contradizem os obtidos pela resistência à força de compressão, que é outra medida da dureza dos grãos. Contudo, são necessários alguns comentários. Para a densidade, tanto os componentes de média como de variância estiveram associados a erros elevados. Desse modo, é difícil inferir que houve realmente predomínio dos efeitos de dominância. Considerando que foram avaliados grãos F₂, isto é, a densidade foi obtida por grão, o erro ambiental deve ser grande. Seria importante, ao se avaliar a densidade, utilizar amostra maior de grãos; nesse caso, seria necessário o emprego de progênies endogâmicas ou não. Além do mais, a correlação entre dureza e densidade, apesar de alta, não é 1, indicando que, na expressão da densidade, há outros fatores que não só a dureza dos grãos. Por essa razão pode-se observar diferença no controle genético da dureza e da densidade.

TABELA 6 Número de indivíduos por população, médias e variâncias, estimativas dos componentes de média e de variância para a densidade de grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Populações	Nº indivíduos	Média (g.cm⁻³)	Variâncias
Cristal	100	1,3065	0,0033
Cunha	100	1,2452	0,0077
F ₂	340	1,2440	0,0096
F ₃	3120	1,2309	0,0071
Componentes de média ¹	Estimativas	Componentes de variância	Estimativas
<i>M</i>	1,2550 (0,0514) ²	σ^2_A	-0,0020 [-0,0017;-0,0022] ³

Continua...

TABELA 6 Continuação.

Populações	Nº indivíduos	Média (g.cm ⁻³)	Variâncias
A	0,0098 (0,0514)	σ^2_D	0,0061 [0,0053;0,0070]
D	-0,1130 (0,1651)	σ^2_E	0,0055 [0,0046;0,0068]
gmd	11,53	-	-
R ² (%)	99,99	-	99,12

¹m: média dos genótipos homozigóticos; a: desvio dos homozigotos em relação ao ponto médio; d: desvio do heterozigoto em relação ao ponto médio. ²Erro padrão. ³Limites inferiores e superiores do intervalo de confiança para as variâncias.

Foram obtidas estimativas da herdabilidade (h^2) para os caracteres em estudo (Tabela 7). As herdabilidades estimadas foram no sentido restrito (h^2_r), portanto, particularmente úteis aos programas de seleção recorrente. Analisando-se os valores dessas estimativas dos caracteres associados ao formato e massa seca de grãos, notam-se diferenças entre os mesmos, sendo maior para o comprimento ($h^2_r=19,70\%$) e nula para espessura. Mesmo a maior estimativa de h^2_r não foi de grande magnitude. Esses resultados reforçam a observação anterior do efeito do ambiente na expressão desses caracteres. Embora sejam características de fácil visualização, o ganho com a seleção visual pode ser pequeno, devido à acentuada influência do ambiente na sua manifestação.

TABELA 7 Estimativas de herdabilidade no sentido restrito, em população F₂ e F₃, para os caracteres comprimento, largura, espessura, massa seca, densidade e resistência à força de compressão em grãos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Caráter	População F ₂ (%)	População F ₃ (%)
Comprimento	12,01	19,70
Largura	3,64	5,64
Espessura	0,00	0,00
Massa seca	10,64	18,14
Resistência à força de compressão	57,11	89,45
Densidade	20,83	42,25

Apesar de densidade e resistência à força de compressão serem formas alternativas de medida da dureza dos grãos, a estimativa da h_r^2 para a densidade foi inferior à da resistência à força de compressão. Isso pode ser explicado pela elevada magnitude da variância ambiental verificada para a densidade dos grãos.

Ao contrário do que foi observado para os outros caracteres, a estimativa de h_r^2 para a dureza, quando avaliada por meio da resistência à força de compressão, foi de grande magnitude. Esse resultado está de acordo com o obtido por Johnson & Russel (1982), os quais avaliaram 80 linhagens e 40 híbridos provenientes das populações BSSS e obtiveram herdabilidade superior a 80% para dureza de grãos. É oportuno salientar que os grãos podem ser submetidos à força de compressão sem afetar a sua germinação e emergência, o que possibilitaria a seleção individual com grande eficiência.

4 CONCLUSÕES

1. No estudo do controle genético de caracteres associados ao formato e à massa seca dos grãos de milho, houve predomínio de interações alélicas de dominância e de baixa herdabilidade.
2. Para o caráter dureza dos grãos, medido pelo texturômetro, a interação alélica predominante foi aditiva e a herdabilidade alta, condição essa favorável para a seleção.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Minnesota: Dept. of Agronomy and Plant Genetics, 2002. 368p.

CANTARELLI, V.S.; FIALHO, E.T.; SOUZA, R.V.; FREITAS, R.T.F.; LIMA, J.A.F. Composição química, vitreosidade e digestibilidade de diferentes híbridos de milho para suínos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.3, p.860-864, maio 2007.

CÁRCOVA, J.; ADRIEU, B.; OTEGUI, M.E. Silk growth in maize: relationship with flower development and pollination. **Crop Science**, Madison, v.43, p.914-920, 2003.

CÁRCOVA, J.; OTEGUI, M.E. Ovary growth and maize kernel set. **Crop Science**, Madison, v.47, p.1104-1110, 2007.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

FERREIRA, D.F.; ZAMBALDE, A.L. Simplificação das análises de algumas técnicas especiais da experimentação agropecuária no Mapgen e softwares correlatos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFORMÁTICA APLICADA A AGROPECUÁRIA E AGROINDÚSTRIA, 1., 1997, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBI, 1997. p.285-291.

FIGUEIREDO, U.J.; DAVIDE, L.M.C.; RAMALHO, M.A.P.; SOUZA, J.C.; SANTOS, P.H.A.D. Avaliação da dureza de grãos de milho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2008.

GARDNER, C.O.; LONNQUIST, J.H. Linkage and the degree of dominance of genes controlling quantitative characters in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v.45, p.186-191, 1959.

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

GOMES, M. de S.; PINHO, R.G.von; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.V.; BRITO, A.H. Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.9, p.879-885, set. 2004.

HALLAUER, R.A.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University, 1988. 468p.

HOECKER, N.; KELLER, B.; PIEPHO, H.P.; HOCHHOLDINGER, F. Manifestation of heterosis during early maize (*Zea mays* L.) root development. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.112, n.3, p.421-429, Feb. 2006.

JOHNSON, D.Q.; RUSSEL, W.A. Genetic variability and relationships of physical grains-quality traits in the BBS population of maize. **Crop Science**, Madison, v.22, p.2179-2182, July/Aug. 1982.

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

KEARSEY, M.J.; POONI, H.S. **The genetical analysis of quantitative traits**. London: Chapman & Hall, 1988, 381p.

MATHER, K.; JINKS, L.L. **Introdução à genética biométrica**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.

NEUFFER, M.G.; COE, E.H.; WESSLER, S.R. **Mutants of maize**. New York: Cold Spring Harbor, 1997, 468p.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R.D.; COORS, J.G.; SAPIENZA, D.; CORREA, C.E.S.; LAUER, J.G.; BERZAGHI, P. Relationships between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. I. Development of near-infrared reflectance spectroscopy calibrations. **Animal feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, n.3-4, p. 247-258, 2008.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B..P. **Genética na agropecuária**. 4.ed. Lavras: UFLA, 2008. 464p.

RAMALHO, M.A.P.; SOUZA, E.A.; SOUZA, J.C. **Genética de populações e quantitativa**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 43p.

ROWE, K.E.; ALEXANDER, W.L. Computations for estimating the genetic parameters in joint-scaling test. **Crop Science**, Madison, v.20, n.1, p.109-110, Jan./Feb. 1980.

SILVA, R.P.; LOGUERCIO, L.L.; PAIVA, E. Caracterização dos padrões proteicos do endosperma do milho e sua relação com a estrutura física do grão. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.3, p.567-575, jul./set. 2000.

SOUZA, N.O.S.; RAMALHO, M.A.P.; BRUZI, A.T.; PINHO, É.V.de R.von. Genetic control of traits associated with maize seed quality. **Maydica**, Bergamo, v.53, p.55-62, 2008.

THOMPSON, D.L.; GOODMAN, M.M. Increasing Kernel Density for Two Inbred Lines of Maize. **Crop Science**, Madison, v.46, n.5, p.2179-2182, Sept. 2006.

CAPÍTULO 4

ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS DA DEGRADABILIDADE DE GRÃOS DE MILHO DIFERINDO EM ESCORE DE IDENTIFICAÇÃO

RESUMO

Com a realização do presente trabalho, objetivou-se estimar parâmetros genéticos da degradabilidade de grãos de milho com diferentes texturas e verificar se ocorre associação entre o escore de idetação dos grãos visualmente avaliados e a degradabilidade *in situ* da matéria seca (DISMS). Foram avaliadas progênies oriundas do cruzamento entre a variedade Cristal de grãos duros e a variedade Cunha de grãos dentados, previamente selecionadas para a dureza dos grãos. As progênies foram avaliadas com relação ao escore de idetação por meio de uma escala visual de notas variando de 1 (duro) a 5 (mole). Para a avaliação da DISMS os grãos foram cortados ao meio, pesados cinco gramas, colocados em saquinhos de tecido “failet” e incubados no rúmen, por 24 horas, em três vacas portadoras de cânula ruminal. Foi constatado que há variabilidade genética para a DISMS. A herdabilidade do caráter em estudo foi de 46%, indicando ser possível o sucesso com a seleção. Não há associação entre o escore de idetação e a porcentagem de DISMS. Assim a avaliação visual nem sempre reflete a dureza *per se* dos grãos, pois o que se vê é o aspecto do pericarpo e não a constituição do endosperma.

ABSTRACT

The present work aimed to assess genetic parameters of degradability in maize grains with different textures and to verify whether there is an association between grain indentation score and *in situ* dry matter degradability (DISMS). The evaluation included progenies with different indentation scores and grain degradability, resulting from the breeding between the varieties Cristal, flint grains, and Cunha, dent grains, previously selected for grain hardness. The progenies were evaluated as to indentation score through a visual scale of notes ranging from 1 (hard) to 5 (dent). To assess DISMS, grains were half cut, weighted five grams, stored in a bag made of cloth 100% "failet", and incubated for 24 hours in the rumen of three bearer cows using a ruminal cannula. There was genetic variability among DISMS. Heritability was 46%, indicating that a successful selection is possible. Indentation score and DISMS showed no association; thus, visual evaluation *per se* does not reflect the grain hardness since it indicates the pericarp appearance but not the endosperm constitution.

1 INTRODUÇÃO

Na região do Sul de Minas, os agricultores mais tradicionais insistem em utilizar variedades, apesar da grande disponibilidade no mercado de cultivares híbridas mais produtivas. Essas variedades são utilizadas, predominantemente, na alimentação animal, seja como silagem ou grãos. Há grande variação entre elas, com relação à textura dos grãos. Existem algumas excessivamente duras, como o milho Cristal e outras bastante moles, como a variedade Cunha.

Pesquisas recentes têm aventado que cultivares de milho com grãos moles apresentam maior degradabilidade ruminal do amido e da matéria seca que cultivares com grãos duros (Pereira et al., 2004; Ngonyamo-Majee et al., 2008).

Progenies diferindo na dureza e, provavelmente, na degradabilidade dos grãos, podem ser obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Cristal e Cunha, contribuindo para a elucidação de parâmetros importantes para sucesso nos programas de melhoramento de milho, grãos com textura favorável.

Diante do exposto, os objetivos desse trabalho foram obter estimativa dos parâmetros genéticos da degradabilidade de grãos de milho e verificar se ocorre associação entre o escore de identificação dos grãos visualmente avaliados e a degradabilidade *in situ* da matéria seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, no período de setembro de 2006 a julho de 2008, nos departamentos de Biologia e de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. O município de Lavras, Minas Gerais, encontra-se a 918 metros de altitude média, nas coordenadas 21°45'S de latitude e 45°00'W de longitude.

Foram utilizadas duas variedades de milho, Cristal e Cunha, contrastantes na dureza dos grãos e que não segregam para o caráter em questão (Tabela 1). Na safra 2006/07, cerca de 50 plantas de cada uma das variedades foram cruzadas para a obtenção das sementes F₁. As sementes obtidas a partir desse cruzamento foram semeadas em fevereiro de 2007 e autofecundadas para a obtenção das sementes F₂. No final do mesmo ano, as sementes F₂ foram autofecundadas e as espigas foram colhidas individualmente, obtendo-se as progênies F_{2,3}, no que se refere ao embrião e ao endosperma.

Uma amostra das sementes da região central da espiga de cada um dos genitores e das 158 progênies F_{2,3} foi o material experimental utilizado no presente trabalho. As amostras foram armazenadas com, aproximadamente, 13% de teor de umidade.

TABELA 1 Características das cultivares de milho utilizadas para a avaliação da degradabilidade *in situ* da matéria seca. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Característica	Cristal	Cunha
Cor	branco	amarelo
Formato	arredondado	achatado
Densidade	alta	baixa
Identação	ausente	presente
Vitreosidade	alta	baixa

A partir dessas amostras foi avaliado o escore de idetação dos grãos, utilizando-se uma escala de notas variando de 1 a 5, em que 1 refere-se ao grão totalmente sem idetação, com extremidade superior arredondada e lisa e 5 ao

grão com presença marcante de indentação, apresentando extremidade superior enrugada. É importante salientar que, dentro da amostra, não ocorreu variação aparente no que se refere ao escore de indentação dos grãos; essa variação foi apenas verificada entre as progênies.

O outro caráter avaliado foi a degradabilidade *in situ* da matéria seca (DISMS). Para isso, foi necessário, inicialmente, realizar um experimento preliminar, a fim de verificar qual a melhor estratégia de avaliação da DISMS, isto é, grãos cortados ao meio ou moídos. Foram utilizados grãos das variedades Cristal e Cunha e, como testemunhas, o híbrido P30F33 (duro e sem indentação) e a variedade Asteca (dentado e com indentação).

Os grãos de cada tratamento foram cortados ao meio, com auxílio de um “cortador de comprimidos” ou moídos em moinho com peneira de 5 mm. Os dados foram avaliados em um esquema fatorial 4 (cultivares) x 2 (forma de processamento do grão), com 3 repetições.

Uma vaca fistulada da raça Jersey foi utilizada para a avaliação da porcentagem de DISMS. Esse animal foi submetido a um período de adaptação de 15 dias, no qual recebeu uma dieta à base de silagem de milho e fubá, com o objetivo de obter boas condições ruminais para a realização do trabalho. A mesma dieta foi mantida durante o período de incubação das amostras no animal.

Foram pesados 5 gramas de milho, previamente secos em estufa, a 65°C, por 72 horas e colocadas em um dessecador até a pesagem, para cada um dos tratamentos. Em seguida, as amostras foram colocadas em saquinhos confeccionados com tecido “faillet” (100% poliéster). A dimensão dos saquinhos foi de 9 x 15 cm, correspondendo a uma relação de 18,5 mg cm⁻². O fechamento das bordas dos saquinhos foi feito por meio de solda obtida com o uso de resistência elétrica (máquina seladora). Seguente ao fechamento, os

saquinhos foram pesados em balança analítica de precisão e armazenados em estufa até o momento de utilização.

No dia da incubação, os saquinhos foram colocados dentro de um saco de filó, com a adição de pesos para mantê-los imersos no rúmen. Posteriormente, esses foram incubados no animal durante 24 horas. Retirados do rúmen, os saquinhos foram imediatamente colocados em água gelada, para a paralisação do processo de degradação da matéria seca. Os mesmos foram lavados, com leve agitação, em sistema de tanque com roda giratória por 10 minutos, renovando-se a água constantemente até a mesma se apresentar transparente. Posteriormente, foram levados a estufa, a 65°C, por 72 horas. Após atingirem peso constante, os saquinhos foram pesados.

Pela diferença de peso entre essa pesagem e a efetuada antes de incubar os materiais, determinou-se a quantidade de matéria seca degradada no rúmen, expressa em porcentagem de matéria seca degradável.

Foi realizada a análise de variância, seguida pelo teste de Scott & Knott (1974), a 5% de probabilidade, com auxílio do programa GENES (Cruz, 2001). O seguinte modelo estatístico foi utilizado para a realização da análise: $Y_{ij} = m + p_i + e_{ij}$, em que: Y_{ij} : valor avaliado no i-ésimo tratamento na j-ésima repetição, m : média geral, p_i : efeito da i-ésima cultivar e e_{ij} : erro aleatório.

A partir da determinação da melhor forma de processamento, foi realizado um segundo experimento, visando à determinação da DISMS. Como material genético, foram utilizadas as variedades Cristal e Cunha, 158 progênies F_{2:3} e quatro testemunhas; duas com grãos tipo dentado (AG1051, AG5011) e duas com grãos duros (P30F33, XB8010). Grãos da parte intermediária dessas espigas foram cortados longitudinalmente, em duas partes iguais, com auxílio de um “cortador de comprimidos” e utilizados para a condução do ensaio de DISMS. O preparo das amostras e dos animais, a condução do experimento e o

cálculo da porcentagem de DISMS foram efetuados conforme descrito anteriormente.

Foram utilizadas três fêmeas bovinas, duas da raça Jersey e uma da raça Nelore, não lactantes, não gestantes e portadoras de cânulas ruminais. As 158 progênies foram divididas em três grupos, no momento da incubação. No primeiro e no segundo grupos, foram avaliadas 60 progênies e, no terceiro, 38 progênies e os 2 genitores. Quatro testemunhas, AG1051, AG5011, P30F33 e XB8010, foram comuns a todos os experimentos. Tomou-se o cuidado de colocar os mesmos tratamentos nos diferentes animais, a cada dia.

Os dados da porcentagem de matéria seca degradável foram submetidos a uma análise conjunta, em blocos ao acaso, com tratamentos comuns, com auxílio do programa GENES (Cruz, 2001). O modelo estatístico utilizado está descrito a seguir: $Y_{ijk} = m + a_k + p + v_{j(k)} + t_c + (at)_{ik} + e_{ijk}$ em que: Y_{ijk} : valor observado no i -ésimo tratamento, na j -ésima repetição do experimento k ; m : média geral; a_k : efeito do k -ésimo experimento; p : efeito dos tratamentos comuns e não comuns; $v_{j(k)}$: efeito do j -ésimo bloco dentro do k -ésimo experimento; $p_{i(k)}$: efeito c -ésima progênie dentro do k -ésimo experimento; t_i : efeito da i -ésima testemunha; $(at)_{ik}$: efeito da interação entre tratamento comum e o experimento e e_{ijk} : erro aleatório.

A partir das esperanças dos quadrados médios, estimou-se a variância genética entre as progênies, os intervalos de confiança associados às estimativas dos componentes de variância, a herdabilidade no sentido amplo na média das progênies e os limites inferiores e superiores das estimativas de herdabilidade, com confiança de $1 - \alpha = 0,95$ (Ramalho et al., 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo da degradabilidade dos grãos de milho maduros, o primeiro questionamento é como avaliar os mesmos, isto é, grãos apenas cortados ao meio ou moídos. Considerando que, neste experimento, o número de progênies a serem avaliadas era muito grande, e pela dificuldade de obter todos os tratamentos com mesma granulometria, optou-se por avaliar a degradabilidade cortando-se apenas os grãos ao meio. Desse modo, a comparação, pelo menos a princípio, seria mais uniforme.

Para verificar se essa estratégia era correta, inicialmente, foi realizado um experimento preliminar em que foram avaliadas quatro cultivares, diferindo no escore de identação dos grãos. A degradabilidade foi avaliada nos grãos cortados ao meio ou moídos a 5 mm. Verificou-se, como era esperado, que a degradabilidade *in situ* da matéria seca (DISMS) dos grãos moídos foi superior à obtida com grãos cortados ao meio (Tabela 2). Na média, os grãos moídos degradaram 3,03 vezes mais que os grãos cortados.

As diferentes formas de processamento do grão têm sido frequentemente estudadas na literatura (Teixeira et al., 1996; Philippeau & Michalet-Doreau, 1998; Passini et al., 2004). Em todos os estudos, os autores concluíram que a DISMS do grão moído apresenta, como ocorreu neste trabalho, valores superiores aos obtidos com grãos quebrados.

A fração solúvel da DISMS é igual, tanto para milho floculado quanto para milho moído finamente, e esta tem menor valor quando os grãos são quebrados (Lykos & Varga, 1995). A moagem dos grãos aumenta a superfície de ação das enzimas digestivas, melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Monticelli et al., 1996). Assim, quando o grão é moído, as diferenças são mais difíceis de serem detectadas do que quando cortados ao meio ou somente quebrados.

TABELA 2 Porcentagem média de degradabilidade *in situ* da matéria seca para grãos cortados ao meio e moídos a 5 mm. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Tratamentos	% DISMS*	
	Grãos cortados ao meio	Grãos moídos a 5 mm
Cristal	10,06 a	37,77a
P30F33	11,37 a	35,97a
Cunha	14,44 b	44,97b
Asteca	16,22 b	39,03a
Média	13,02	39,44

*Médias com letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de significância de 5%.

Entretanto, a classificação da DISMS praticamente não diferiu entre as cultivares nas diferentes formas de processamento do grão (Tabela 2). Ela foi superior para a variedade Cunha e inferior para a variedade Cristal e para o híbrido P30F33. Desse modo, as diferenças observadas entre as progênies no presente trabalho, cortando os grãos ao meio, devem refletir a variação genotípica na DISMS.

Nesse contexto, McAllister et al. (1993) e Philippeau et al. (2000) comentaram que a composição química do amido de grãos de milho interfere em sua disponibilidade para hidrólise enzimática do rúmen. Esses mesmos autores afirmam que as variações na degradação ruminal do amido em milhos de diferentes vitreosidades estão estreitamente relacionadas com a distribuição de proteína no endosperma. Com isso, grãos de milho cortados ao meio são mais eficientes em separar os diferentes genótipos, pois permitem aflorar as diferenças relacionadas à dureza dos mesmos, devido à menor separação dos grânulos de amido da matriz proteica. Ao contrário, em grãos moídos, os grânulos de amido ficam menos protegidos pela matriz proteica e, conseqüentemente, mais disponíveis para a atuação dos microrganismos no rúmen.

A umidade dos grãos também pode afetar a degradabilidade (Correa et al., 2003; Pereira et al., 2004). Entretanto, como, no trabalho, foram utilizados

grãos secos e as espigas foram todas armazenadas com 13% de umidade, pode-se inferir que não ocorreu diferença entre os grãos no que se refere à umidade.

O resumo da análise de variância para a porcentagem de DISMS dos genitores e das progênes, incubados por 24 horas, está apresentado na Tabela 3. A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação foi boa (CV=14,0%), semelhante à obtida por Gomes et al. (2004).

TABELA 3 Resumo da análise de variância e estimativas da variância genética entre progênes ($\hat{\sigma}_p^2$) e da herdabilidade (h^2) entre médias de progênes para a porcentagem de degradabilidade *in situ* da matéria de matéria seca, após 24 horas de incubação. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	P
Vacas/experimento	6	195,9154	<0,01
Experimento	2	48,0811	<0,01
Test x Exp	6	4,8688	0,47
Tratamentos Ajust	163	9,7619	<0,01
Entre pais	1	9,0528	0,19
Pais vs Progênes	1	0,0037	0,98
Entre progênes	157	10,0294	<0,01
Entre prog A	86	7,8850	1,50
Entre prog B	70	12,4670	2,38
pA vs pB	1	23,823	4,55
Entre Testemunha	3	7,4961	5,10
Test vs Prog	1	0,0082	3,60
Resíduo	338	5,2343	
Total	515	9,0509	
Média	16,3		
CV(%)	14,0		
$\hat{\sigma}_p^2$	1,60 (1,40 – 1,87) ^{1/}		
h^2	46,82 (31,17 – 59,77) ^{1/}		

^{1/} LI e LS – limites inferiores e superiores dos intervalos de confiança, a 5% de probabilidade.

Como o número de progênes era grande, não foi possível avaliar todas simultaneamente em uma mesma vaca. Para evitar que fossem confundidas com outros fatores, as progênes foram separadas em três grupos e avaliadas na

mesma vaca, com testemunhas comuns em cada dia. Houve diferença significativa ($P \leq 0,01$) para as fontes de variação vaca/experimento e experimento, sugerindo que os tratamentos tiveram comportamentos distintos nos diferentes dias de incubação e nas vacas utilizadas. A diferença observada entre vacas era esperada, uma vez que há variação genotípica entre os animais e, assim sendo, a degradabilidade dos grãos não deve ser a mesma em todos os animais avaliados. Gomes et al. (2004) também observaram diferença significativa para a fonte de variação vacas, ao estudar a DISMS em silagem de milho.

Não foi verificada diferença significativa para a interação testemunhas x experimentos. Depreende-se que, após o ajuste em relação às testemunhas, as progênies foram comparadas em condições semelhantes (Pimentel Gomes, 1987).

Constatou-se diferença significativa ($P \leq 0,01$) entre tratamentos. Na sua decomposição, o teste de F foi significativo para fonte de variação progênies e pais. O contraste pais vs progênies não significativo sugere que o desempenho médio dos pais foi semelhante ao desempenho médio das progênies. Também não foi observada diferença significativa para a fonte de variação testemunhas, ou seja, apesar de terem sido utilizados genótipos com diferentes tipos de grãos, esses se comportaram de forma semelhante, no que diz respeito à DISMS. O teste de F mostrou diferença significativa para os pais, a $P \leq 0,19$. Vale salientar que o genitor Cunha, classificado como endosperma mole, apresentou porcentagem de DISMS 16% superior ao do genitor Cristal.

Em princípio, esse resultado corrobora com informações anteriores de que o milho com endosperma mole tem maior degradabilidade. Flachowsky et al. (1992) observaram que DISMS de grãos de milho, seis horas após a incubação, variou entre 35,2% e 56,9%, para grãos duros e dentados, respectivamente. Verbic et al. (1995) verificaram que a DISMS de grãos de

milho variou de 71,7% (dentado) a 54,8% (duro). No trabalho realizado por Philippeau & Michalet-Doreau (1998), a DISMS média foi de 55,8%, para grãos dentados e de 42,3% para grãos duros.

Na comparação entre cultivares híbridas ou variedades de diferentes origens, e diferindo no escore de identação, nem sempre se pode afirmar, pelos resultados, que a maior DISMS seja devido à dureza dos grãos *per se*. Assim, as inferências a respeito da associação entre dureza dos grãos e DISMS é o procedimento mais correto, pois, na média, a constituição do endosperma deve ser semelhante e a diferença será devido apenas à dureza dos grãos.

Constataram-se, como já mencionado, diferenças entre as progênies no que se refere a DISMS (Figura 1). Praticamente, verifica-se que as médias das progênies obedecem a uma distribuição normal, sugerindo que há predominância de variância aditiva, sobretudo se o número de genes envolvidos no controle do caráter não for grande (Ramalho et al., 2008). Essa observação está de acordo com os resultados obtidos por Gomes et al. (2004) que, visando obter informações sobre o controle genético da DISMS de silagens de linhagens de milho, constatou predominância dos efeitos aditivos.

A amplitude de variação de 11,95% foi 73,2% da média obtida, permitindo inferir que a variação foi expressiva. Essa constatação pode ser comprovada por meio de estimativa de variância genética entre as progênies ($\hat{\sigma}_p^2$), que foi diferente de zero, limite inferior da estimativa, com 95% de probabilidade positiva (Tabela 2). Esses resultados permitem inferir sobre o potencial a ser explorado para essa característica via seleção.

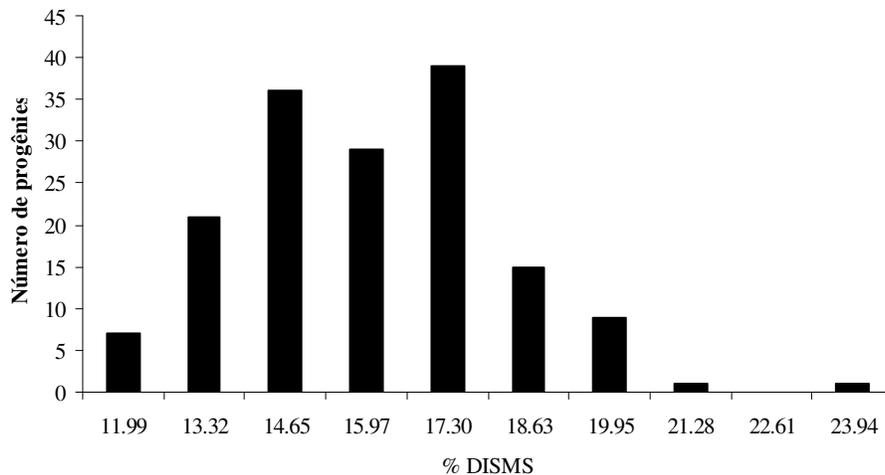


FIGURA 1 Distribuição de frequência da degradabilidade *in situ* da matéria seca no tempo de 24 horas de incubação, de 158 progênes, com valor mínimo de 11,99% e máximo de 23,94%. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Na literatura, há relatos de variação entre cultivares de milho que, embora em diferentes magnitudes, corroboram com esses resultados. Assim, por exemplo, Ferret et al. (1997) encontraram valores de digestibilidade da matéria seca variando de 58% a 76%. Silva et al. (1999) estudaram a degradabilidade *in situ* do material ensilado de 49 híbridos de milho e encontraram valores entre 40,8% a 63,8%, para 24 horas de incubação. Fonseca (2000) verificou que a porcentagem de degradabilidade efetiva variou de 47,57% a 58,46%. Jaeger et al. (2006) avaliaram sete híbridos quanto à disponibilidade e digestibilidade da matéria seca e verificaram que os valores variaram de 55,3% a 63,7%. Esses resultados permitem inferir sobre o potencial a ser explorado para essa característica.

A estimativa da herdabilidade (h^2) obtida foi de 46,8% (Tabela 2). Os intervalos de confiança possibilitam inferir que a h^2 é diferente de zero, limite inferior positivo. Infelizmente, não foi encontrado nenhum relato, na literatura

em que se avaliou a DISMS desse tipo de progênie, para que as estimativas de h^2 pudessem ser comparadas. Gomes et al. (2004) obtiveram estimativas de h^2 de 80,4% para silagem de linhagens de milho. Como se observa, o valor é praticamente o dobro do obtido neste trabalho. Deve ser realçado, contudo, que essas estimativas não são diretamente comparáveis, pois envolvem produtos diferentes e tipos de progênies diferentes. Com linhagens, por exemplo, é explorado o dobro da variância aditiva existente na população F_2 . No presente caso, considerando que os pais são puros para dureza dos grãos, as progênies avaliadas estavam na geração $F_{2,3}$, quando se considera o endosperma e na F_2 , quando se considera o pericarpo. Tendo como referência que é a constituição do endosperma que afeta a degradabilidade, foram utilizadas progênies $F_{2,3}$. Nessa situação, é explorado $1\sigma^2_A + \frac{1}{4}\sigma^2_D$, em que σ^2_A é a variância genética aditiva e σ^2_D é a variância genética de dominância.

Outro importante fator a ser verificado é se a associação entre o escore de identificação dos grãos e a DISMS é constatada também entre as progênies. Antes da implantação do experimento de degradabilidade, as progênies foram visualmente avaliadas com relação ao escore de identificação dos grãos. Foram identificadas 21 progênies com nota 1; 19 com nota 2; 41 com nota 3; 34 com nota 4 e 43 com nota 5.

A distribuição de frequência da DISMS das progênies, de acordo com o escore de identificação visualmente avaliado, é apresentada na Figura 2. Em princípio, os resultados observados evidenciam que não há uma relação entre o escore de identificação e a DISMS, pois há presença de progênie com nota 1 (dura) na classe de maior DISMS e com nota 5 (mole) em menores DISMS (Figura 2). Observa-se, por exemplo, uma progênie com nota visual 1 e DISMS superior a 23% e três progênies com nota 5 e valores menores que 12% de DISMS.

Comparando-se a frequência de distribuição separadamente para cada nota de escore de identificação, observa-se que houve distribuição de progênies em

todos os intervalos de DISMS, independente da nota (Figura 3). Para progênies com notas 1 e 2, houve maior concentração no intervalo de 16%-17% de DISMS. O mesmo resultado foi observado para nota 3, entretanto, nesse caso, houve maior uniformidade na distribuição das progênies. Para as notas 4 e 5, as progênies se concentraram no intervalo de 13%-15% de DISMS. Esses resultados diferem dos existentes na literatura, como já comentado, envolvendo híbridos.

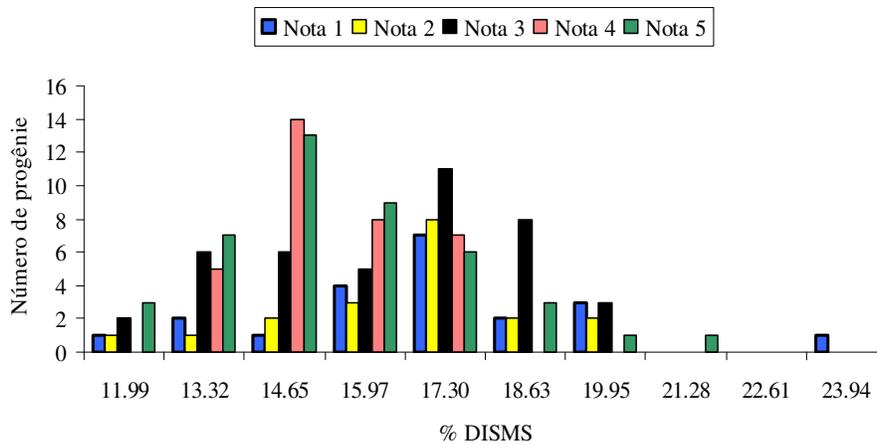


FIGURA 2 Distribuição de frequência da degradabilidade *in situ* da matéria seca no tempo de 24 horas de incubação de 158 progênies em conjunto para cada nota. UFLA, Lavras, MG, 2009.

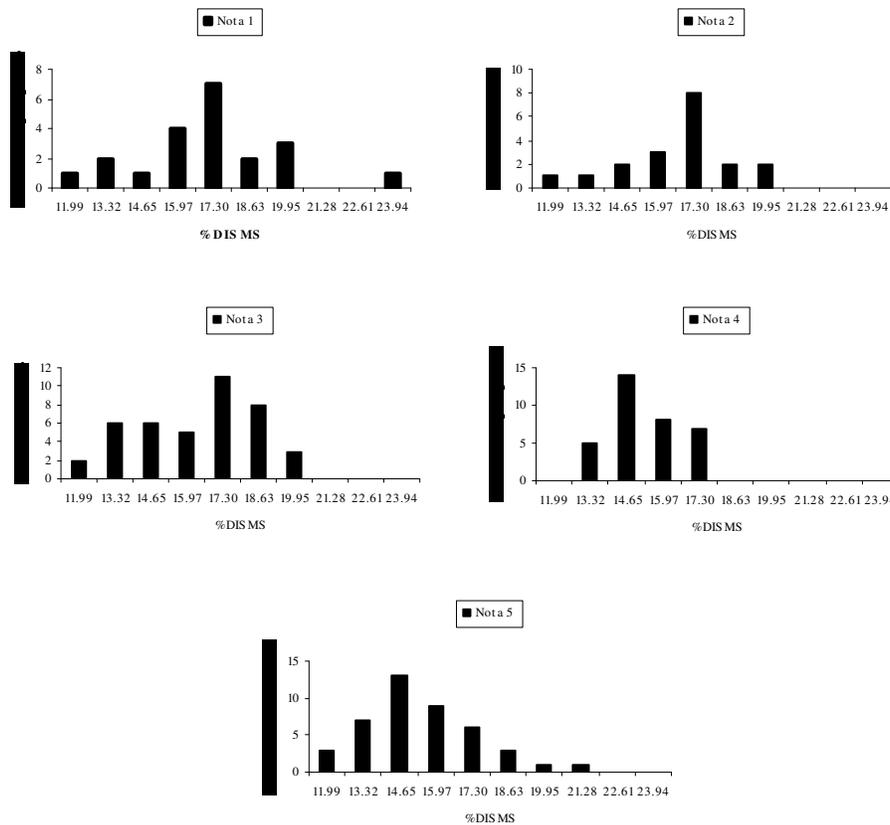


FIGURA 3 Distribuição de frequência da degradabilidade *in situ* da matéria seca das 158 progênies separadamente para cada nota. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Resultados concordantes com esses foram apresentados por Rossi Júnior et al. (2006). Estes autores também não encontraram associação entre a menor dureza dos grãos avaliada visualmente e a maior degradabilidade, ao avaliarem a silagem de duas cultivares, sendo uma dentada e outra semidura, a uma altura de corte de 20 cm. Resultado semelhante foi obtido por Ribas et al. (2007), ao estudarem a digestibilidade da matéria seca *in vitro* de silagens de quatro híbridos de milho, com diferentes graus de vitreosidade no grão; para o híbrido AG1051, a digestibilidade foi de 48,2% e, para o híbrido SHS4040, foi de

47,2%. Contudo, há inúmeros outros relatos de que os milhos dentados apresentam maior degradabilidade, como já comentado (Flachowsky et al. 1992; Verbic et al., 1995; Philippeau & Michalet-Doreau, 1998; Correa, 2001).

As empresas produtoras de sementes utilizam o método de escore de identificação para referir a classificação da textura dos grãos. Entretanto, os resultados encontrados no presente trabalho indicam que esse não é um método eficiente para associar textura com DISMS. Isto porque o que se observa é o aspecto do pericarpo formado na fertilização, que corresponde à parede do ovário (Ramalho et al., 2008). Portanto, nem sempre pode refletir a verdadeira constituição do endosperma que, na realidade, é o responsável pela maior ou menor degradabilidade. Esse fato é particularmente expressivo quando se tem um híbrido simples do cruzamento de duas linhagens que diferiram na dureza. Na lavoura do agricultor, o pericarpo terá a constituição genética dos grãos da geração F_1 , isto é, todos os grãos terão o mesmo aspecto, entretanto, o endosperma e o embrião estarão na geração F_2 , isto é, irão segregar. Portanto, o que se visualiza, em termos de dureza, nem sempre reflete a verdadeira constituição do endosperma. Assim, se as duas linhagens parentais não diferirem na dureza e no endosperma, será obter resultados fidedignos da associação dureza e degradabilidade.

Deve ser enfatizado que, quando os grãos para avaliação são colhidos de experimentos em que se avaliam diferentes tipos de híbridos, as inferências são ainda menos fidedignas. Pois, nessa situação, os endospermas terão 1/3 de sua constituição devido ao pólen, de origem desconhecida.

4 CONCLUSÕES

1. Há variabilidade genética para a degradabilidade *in situ* da matéria seca dos grãos de milho.
2. A herdabilidade da degradabilidade *in situ* da matéria seca foi de 46%, resultado que indica ser possível o sucesso com a seleção, desde que se tenha maior rigor experimental na avaliação das progênes.
3. Não há associação entre a avaliação do escore de idetação dos grãos e a degradabilidade *in situ* da matéria seca.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORREA, C.E.S.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, S.G. de; RAMOS, M.H. Performance of holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.4, p.621-629, Oct./Dec. 2003.

CORREA, C.E.S. **Silagem de milho ou de cana-de-açúcar e o efeito da textura do grão de milho no desempenho de vacas holandesas**. 2001. 102p. Tese (Doutorado em Nutrição de Ruminantes) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CRUZ, C.D. **Programa GENES: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 542p.

FERRET, A.; GASA, J.; PLAIXATS, J. Prediction of voluntary intake and digestibility of maize silages given to sheep from morphological and chemical composition, in vitro digestibility or rumen degradation characteristics. **Animal Science**, Champaign, v.64, n.3, p.493-501, June 1997.

FLACHOWSKY, G.; BALDEWEG, P.; SCHEIN, G. A note on the in sacco dry matter degradability of variously processed maize grains and of different maize varieties in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.39, n.1-2, p.173-181, 1992.

FONSECA, A.H. **Características químicas e agronômicas associadas à degradabilidade da silagem de milho**. 2000. 93p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GOMES, F.P. **A estatística moderna na pesquisa agropecuária**. 3. ed. rev. e ampl. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1987, 162p.

GOMES, M.S.; PINHO, R.G.V.von; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.V.; BRITO, A.H. Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.9, p.879-885, set. 2004.

JAEGER, S.L.; LUEBBE, M.K.; MACKEN, C.N.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, T.J.; FITHIAN, W.A. Influence of corn hybrid traits on digestibility and the efficiency of gain in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.84, n.7, p.1790-1800, 2006.

LYKOS, T.; VARGA, G. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources *in situ*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.8, p.1789-1801, 1995.

McALLISTER, T.A.; PHILLIPPE, R.C.; RODE, L.M.; CHENG, K.J. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.1, p.205-212, 1993.

MONTICELLI, C.J.; MENTEN, J.F.M.; ZANOTTO, D.L.; LIMA, G.J.M.M. de; GUIDONI, A.L. Efeito da granulometria do milho, da área por animal e do sexo sobre o desempenho de suínos em crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.25, n.6, p.1150-1162, nov. 1996.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R.D.; COORS, J.G.; SAPIENZA, D.; CORREA, C.E.S.; LAUER, J.G.; BERZAGHI, P. Relationships between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. I. Development of near-infrared reflectance spectroscopy calibrations. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, n.3-4, p.247-258, 2008.

PASSINI, R.; BORGATTI, L.M.O.; FERREIRA, F.A.; RODRIGUES, P.H.M. Degradabilidade no rúmen bovino de grãos de milho processados de diferentes formas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.3, mar. 2004.

PEREIRA, M.N.; PINHO, R.G. von; BRUNO, R.G.; CALESTINE, G.A. Ruminal degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.61, n.4, p.358-363, July 2004.

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. **Journal of the Science of food and Agriculture**, London, v.80, n.3, p.404-408, 2000.

PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on *in situ* degradation of starch in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.8, p.2178-2184, Aug. 1998.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 12. ed. São Paulo, Nobel, 1987. 466p.

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 326p.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. Lavras: UFLA, 2008. 464p.

RIBAS, M.N.; GONÇALVES, L.C.; MAURÍCIO, R.M. Degradabilidade e cinética de fermentação ruminal das silagens de quatro híbridos de milho, avaliadas pela técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.2, p. 223-233, ago. 2007.

ROSSI JÚNIOR, P.; FUGISAWA, A.C.; SCHOGOR, A.L.B.; MURARO, G.B. Digestibilidade aparente de dois cultivares de milho, cortados em diferentes alturas, submetidos à ensilagem. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.11, n.3, p.58-61, 2006.

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

SILVA, L.F.P. e; MACHADO, P.F.; FRANCISCO JÚNIOR, J.C. Características agronômicas e digestibilidade *in situ* da fração volumosa de híbridos de milho para silagem. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.56, n.1, p.171-184, jan. 1999.

TEIXEIRA, J.C.; SANTOS, R.M.; OLIVEIRA, A.I.G. Degradabilidade ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro de rações contendo caroço de algodão e grão de milho, em diferentes formas físicas, em vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Ribeirão Preto, v.25, n.4, p 814-823, jul. 1996.

VERBIC, J.; STEKAR, J.M.A.; CEPON, M.R. Rumen degradation characteristics and fibre composition of various morphological parts of different maize hybrids and possible consequences for breeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.54, n.1-4, p.133-148, Aug. 1995.