

## EFEITOS DA INTRODUÇÃO DOS GENES OPACO-2 E FARINÁCEO-2 NA VARIEDADE DE MILHO CENTRALMEX\*

Luiz Sérgio Saraiva  
José de Almeida Filho\*\*

### 1. INTRODUÇÃO

Desde que se descobriu que os genes opaco-2 (5) e farináceo-2 (9) tornavam a proteína do milho de melhor qualidade, trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de introduzir esses genes em linhagens e variedades existentes e bem produtivas, visando a obtenção de milho de melhor valor protéico.

Os genes opaco-2 e farináceo-2 atuam, principalmente, aumentando o nível do aminoácido lisina e, como este é um dos aminoácidos essenciais, o acréscimo do seu teor torna-se muito importante na alimentação humana, de aves e suínos.

Uma vez efetuada a introdução desses genes e recuperada a base genética original, é de muita importância aquilatar os efeitos por eles causados nas características físicas e químicas do milho, visando determinar as consequências dessas introduções. Esta pesquisa teve por objetivos verificar os efeitos das introduções, feitas separadamente, dos genes opaco-2 e farináceo-2 em uma variedade de milho, medidos através das características densidade das sementes e peso de 50 destas, percentagens de proteína e de lisina nas sementes e na porcentagem de lisina na proteína.

### 2. REVISÃO DE LITERATURA

NELSON (7) cita que o gene opaco-2 foi descoberto por SINGLETON e JONES e o farináceo-2 por MUM, ambos na década de vinte.

O gene opaco-2 é recessivo simples, localizado no cromosomo 7 e o farináceo-2 é semi-dominante, localizado no cromosomo 4 (10).

Sementes opaco-2, em relação às normais, possuem menor peso (1,15) e menor densidade (6,11). Contudo, ALEXANDER *et alii* (2) e SARAIVA (12) encontraram sementes opaco-2 de peso superior ao das normais. Sementes farináceo-2 também possuem menor peso (6,14) e menor densidade (6,11) do que as sementes normais. SREERAMULU *et alii* (14) observaram que as sementes fari-

\* Aceito para publicação em 26-6-1973.

\*\* Respectivamente, Auxiliar de Ensino e Professor Adjunto da Universidade Federal de Viçosa.

náceo-2 são mais pesadas do que as opaco-2.

Sementes opaco-2 possuem maior teor de proteína do que as sementes normais (13,16), porém, BARBOSA (4) não encontrou diferença semelhante. Sementes farináceo-2 também possuem nível mais elevado de proteína (8), no entanto, sementes opaco-2 apresentam menor teor de proteína do que as de farináceo-2 (8).

Sementes opaco-2 apresentam porcentagem mais elevada em lisina do que as sementes normais (3), e as sementes farináceo-2 também possuem maior porcentagem de lisina (8).

Opaco-2 e farináceo-2 apresentam maior porcentagem de lisina na proteína do que o milho normal (7).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Campo Experimental da Genética, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

O milho usado foi a variedade Centralmex no 4º retrocruzamento com opaco-2 e farináceo-2, separadamente.

Sementes do 4º retrocruzamento, para cada gene, foram cruzadas entre si e, na colheita, separadas as sementes Centralmex-opaco-2 e Centralmex-farináceo-2 das respectivas espigas segregantes, para serem usadas no plantio seguinte. No plantio, foram usados três tratamentos: 1-Centralmex(normal); 2-Centralmex-opaco-2; 3-Centralmex-farináceo-2. Foram plantadas três fileiras de 40 metros cada, distribuídas ao acaso no terreno e correspondendo aos três tratamentos. Foi usado espaçamento de 1,00 metro entre fileiras por 0,50 metro entre covas, sendo plantadas três sementes por cova.

Foram autofecundadas todas as plantas possíveis e na colheita eliminadas as espigas doentes e mal granadas, sendo utilizadas para o estudo 30 espigas de cada tratamento. Essas espigas foram debulhadas separadamente e retiradas, ao acaso, 50 sementes de cada, que foram então pesadas. Determinou-se também o volume dessas sementes para obtenção da densidade através da relação massa/volume (gramas/ml).

Posteriormente, foram efetuadas as análises de proteína e lisina, sendo a proteína determinada pelo método semimicro Kjeldahl e a lisina pelo método colorimétrico da dinitro piridina.

O delineamento experimental utilizado foi o de casualização completa.

### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Peso de 50 Sementes

O peso médio de 50 sementes Centralmex normais (16,26 g) foi maior do que o das sementes Centralmex-opaco-2 (14,26 g), sendo a diferença significativa a 5%. Resultados semelhantes foram obtidos por WATSON (15) e WICHSER (16). As sementes Centralmex-farináceo-2 também apresentaram o peso médio de 50 sementes (14,34 g) significativamente menor do que as sementes Centralmex, concordando com SREERAMULU (14) (quadros 1 e 2). Em relação às sementes Centralmex normais, as sementes opaco-2 pesaram, em média, 12,3% menos e as farináceo-2, 11,8%.

A média de peso de 50 sementes entre opaco-2 e farináceo-2 foi praticamente a mesma, não mostrando diferença significati-

va. Estes resultados discordam dos obtidos por SREERAMULU (14). A grande variação no peso das sementes mostra ser possível seleção para sementes opaco-2 e farináceo-2 de peso igual ou superior ao das sementes Centralmex normais.

QUADRO 1 - Médias, limites de variação e diferenças entre as médias na avaliação do peso de 50 sementes(g) de 3 variedades

Tratamentos	Médias	Limites de variação		Diferenças entre médias		
		Máximo	Mínimo	C-f <sub>12</sub>	C-o <sub>2</sub>	f <sub>12</sub> -o <sub>2</sub>
Centralmex(C)	16,26	24,5	10,2	1,92*	2,00*	0,08
Cent.-fariná- ceo-2 (f <sub>12</sub> )	14,34	19,8	9,3			
Cent.-opaco-2 (o <sub>2</sub> )	14,26	20,2	9,2			

\*: Significativa a 5%.

#### 4.2. Densidade

As sementes Centralmex normais apresentaram densidade média de 1,219 enquanto que a das sementes Centralmex-opaco-2 foi de 1,012 e a das sementes Centralmex-farináceo-2, de 1,086, sendo ambas diferenças altamente significativas. Estes resultados concordam com os obtidos por PAEZ (11) (quadros 3 e 4).

As sementes Centralmex-farináceo-2 apresentaram densidade média maior que a das sementes opaco-2, sendo a diferença significativa ao nível de 1%.

A semelhança do que ocorreu para peso de 50 sementes, houve grande amplitude de variação na densidade das sementes, evidenciando a possibilidade de seleção para sementes Centralmex-opaco-2 e Centralmex-farináceo-2 de densidade comparável às das sementes Centralmex normais.

#### 4.3. Porcentagem de Proteína nas Sementes

As porcentagens médias de proteína das sementes Centralmex normais (12,08%) e Centralmex-opaco-2 (12,03%) não apresentaram diferença significativa, o que concorda com BARBOSA (4) mas discorda dos resultados obtidos por SREERAMULU e BAUMAN (13) e WICHSER (16).

As sementes Centralmex-farináceo-2, com porcentagem média de proteína de 12,37%, não diferiram significativamente em relação ao teor de proteína das sementes Centralmex normais, como também da Centralmex-opaco-2. Estes resultados discordam dos obtidos por NELSON (8) (quadros 5 e 6).

QUADRO 2 - Peso de 50 sementes (g) das variedades Centralmex normal, Centralmex-farináceo-2 e Centralmex-opaco-2

Espiga (Nº)	Centralmex normal	Centralmex- farináceo-2	Centralmex- opaco-2
1	16,5	12,3	15,7
2	22,6	19,8	12,7
3	15,4	13,3	9,9
4	14,5	19,1	15,9
5	16,0	10,7	11,1
6	24,5	13,9	13,7
7	13,0	18,0	14,1
8	17,2	17,5	15,4
9	15,5	12,7	18,0
10	16,2	16,2	15,4
11	12,7	13,3	11,7
12	13,3	12,6	10,6
13	16,3	18,1	10,7
14	13,5	12,8	13,7
15	14,6	11,2	16,2
16	10,7	17,3	13,4
17	16,8	10,0	13,0
18	20,8	15,4	15,7
19	18,7	12,9	13,1
20	20,0	9,3	14,3
21	14,5	13,3	13,2
22	10,2	18,3	14,0
23	23,1	13,4	16,2
24	17,8	12,9	17,9
25	16,3	14,1	20,2
26	18,2	11,9	9,2
27	17,6	14,0	18,9
28	12,9	13,0	10,5
29	14,2	13,7	16,1
30	14,3	19,1	17,3
Média	16,26	14,34	14,26

**QUADRO 3 - Médias, limites de variação e diferenças entre as médias na avaliação da densidade das sementes de 3 variedades**

Tratamentos	Médias	Limites de variação		Diferenças entre médias		
		Máximo	Mínimo	C-f1 <sub>2</sub>	C-o <sub>2</sub>	f1 <sub>2</sub> -o <sub>2</sub>
Centralmex(C)	1,219	1,327	1,074	0,133**	0,207**	0,074**
Cent.-farináceo-2 (f1 <sub>2</sub> )	1,086	1,220	0,930			
Cent.-opaco-2 (o <sub>2</sub> )	1,012	1,142	0,900			

\*\*: Significativa a 1%.

**QUADRO 4 - Densidade das sementes (g/ml) das variedades Centralmex normal, Centralmex-farináceo-2 e Centralmex-opaco-2**

Espiga (Nº)	Centralmex normal	Centralmex- farináceo-2	Centralmex- opaco-2
1	1,178	0,946	1,047
2	1,189	1,131	1,058
3	1,184	1,156	0,900
4	1,115	1,005	0,935
5	1,231	1,070	1,009
6	1,225	1,069	1,142
7	1,238	1,161	1,044
8	1,228	1,094	1,027
9	1,291	1,058	1,028
10	1,246	1,080	0,962
11	1,154	1,108	0,936
12	1,156	1,050	0,964
13	1,164	1,131	0,973
14	1,227	1,113	0,913
15	1,327	1,120	1,080
16	1,189	1,153	1,031
17	1,292	1,111	1,000
18	1,260	1,027	0,981
19	1,247	1,032	1,007
20	1,212	0,930	0,953
21	1,208	1,108	0,978
22	1,074	1,220	1,077
23	1,215	1,218	1,012
24	1,271	0,992	1,053
25	1,253	1,128	1,035
26	1,300	1,035	1,033
27	1,257	1,167	1,050
28	1,173	1,000	1,050
29	1,291	1,054	1,006
30	1,191	1,123	1,081
Média	1,219	1,086	1,012

QUADRO 5 - Médias, limites de variação e diferenças entre as médias na avaliação da porcentagem de proteína das sementes de 3 variedades

Tratamentos	Médias	Limites de variação		Diferenças entre médias		
		Máximo	Mínimo	f1 <sub>2</sub> -C	C-o <sub>2</sub>	f1 <sub>2</sub> -o <sub>2</sub>
Centralmex (C)	12,08	15,4	8,6	0,29	0,05	0,34
Cent.-fariná- ceo-2 (f1 <sub>2</sub> )	12,37	14,8	9,5			
Cent.-opaco-2 (o <sub>2</sub> )	12,03	13,9	8,1			

QUADRO 6 - Porcentagens de proteína nas sementes das variedades Centralmex normal, Centralmex-farináceo-2 e Centralmex-opaco-2

Espiga (Nº)	Centralmex normal	Centralmex- farináceo-2	Centralmex- opaco-2
1	11,8	13,0	10,9
2	12,9	11,8	11,8
3	10,4	10,9	8,1
4	15,4	14,2	12,7
5	15,1	13,6	10,2
6	13,0	14,2	9,7
7	10,0	11,4	12,9
8	12,0	12,3	11,6
9	11,6	11,2	12,2
10	13,2	14,1	13,2
11	13,6	12,5	12,3
12	11,1	9,5	10,6
13	14,5	14,3	13,1
14	10,1	11,1	13,9
15	10,0	12,5	12,5
16	11,5	11,5	12,5
17	12,7	11,0	13,2
18	11,3	10,7	12,8
19	11,0	13,6	9,5
20	15,4	14,8	13,5
21	11,3	9,6	12,2
22	11,8	12,7	8,8
23	12,9	9,9	13,8
24	11,6	14,2	13,3
25	11,7	12,3	13,1
26	12,7	13,2	11,6
27	13,3	13,7	13,2
28	9,9	13,1	12,7
29	8,6	12,2	12,8
30	11,9	12,0	12,2
Média	12,08	12,37	12,03

## 4.4. Porcentagem de Lisina nas Sementes

Centralmex-opaco-2 apresentou porcentagem média de lisina de 0,544% na semente, que no Centralmex normal foi de 0,287%, sendo a diferença altamente significativa, concordando com ALVEY e HAMILTON (3). Diferença altamente significativa foi também encontrada quando se compararam Centralmex-opaco-2 e Centralmex-farináceo-2, com porcentagem média de lisina de 0,439% (quadros 7 e 8).

QUADRO 7 - Médias, limites de variação e diferenças entre as médias na avaliação da porcentagem de lisina das sementes de 3 variedades

Tratamentos	Médias	Limites de variação		Diferenças entre médias		
		Máximo	Mínimo	$\sigma_2-C$	$\sigma_2-f_{12}$	$f_{12}-C$
Centralmex (C)	0,289	0,383	0,246	0,255**	0,105**	0,150**
Cent.-fariná-ceo-2 ( $f_{12}$ )	0,439	0,579	0,323			
Cent.-opaco-2 ( $\sigma_2$ )	0,544	0,686	0,389			

\*\*: Significativa a 1%.

Comprovou-se o elevado teor de lisina na semente do milho opaco-2, encontrando-se quase duas vezes mais lisina do que no milho normal e 24% a mais do que no farináceo-2. Por outro lado, Centralmex-farináceo-2 mostrou diferença altamente significativa em relação a Centralmex normal.

O limite superior de variação no teor de lisina do Centralmex-opaco-2 foi de 0,686%, evidenciando ampla possibilidade de se selecionar para um teor ainda mais elevado de lisina na semente. O limite superior do Centralmex normal (0,383% de lisina) não atingiu o mínimo do Centralmex-opaco-2 (0,389%).

O Centralmex-farináceo-2 apresentou ampla faixa de variação, com o limite máximo atingindo 0,579% de lisina, sendo também possível efetuar-se seleção para um nível mais elevado de lisina na semente.

QUADRO 8 - Porcentagem de lisina nas sementes das variedades Centralmex normal, Centralmex-farináceo-2 e Centralmex-opaco-2

Espiga (Nº)	Centralmex normal	Centralmex- farináceo-2	Centralmex- opaco-2
1	0,246	0,424	0,502
2	0,300	0,377	0,555
3	0,258	0,341	0,389
4	0,306	0,454	0,567
5	0,300	0,514	0,502
6	0,300	0,460	0,448
7	0,246	0,389	0,609
8	0,252	0,484	0,549
9	0,288	0,472	0,520
10	0,335	0,406	0,591
11	0,335	0,389	0,639
12	0,282	0,520	0,466
13	0,282	0,448	0,591
14	0,288	0,413	0,686
15	0,270	0,406	0,561
16	0,282	0,478	0,561
17	0,276	0,442	0,621
18	0,282	0,389	0,650
19	0,264	0,478	0,442
20	0,371	0,579	0,639
21	0,306	0,371	0,514
22	0,282	0,448	0,413
23	0,258	0,323	0,543
24	0,264	0,520	0,526
25	0,246	0,448	0,555
26	0,288	0,424	0,460
27	0,294	0,419	0,508
28	0,258	0,460	0,668
29	0,270	0,472	0,484
30	0,383	0,419	0,555
<hr/>			
Média	0,287	0,439	0,544

#### 4.5. Porcentagem de Lisina na Proteína

As porcentagens médias de lisina na proteína nas sementes dos tratamentos foram (a) Centralmex-opaco-2: 4,53; (b) Centralmex-farináceo-2: 3,57 e (c) Centralmex normal: 2,40, mostrando que opaco-2 e farináceo-2 apresentam proteína de melhor qualidade, o que concorda com NELSON (7). Encontrou-se diferença altamente significativa ao se comparar o Centralmex-opaco-2 com o Centralmex-farináceo-2 ou com o Centralmex normal. Diferença altamente significativa foi também encontrada quando se comparou Centralmex-farináceo-2 com Centralmex-normal (quadros 9 e 10).

QUADRO 9 - Médias, limites de variação e diferenças entre as médias na avaliação da porcentagem de lisina na proteína das sementes de 3 variedades

Tratamentos	Média	Limites de variação		Diferenças entre médias		
		Máximo	Mínimo	$\bar{o}_2-C$	$\bar{o}_2-f\bar{l}_2$	$f\bar{l}_2-C$
Centralmex(C)	2,40	3,22	1,94	2,13**	0,96**	1,17**
Cent.-Farináceo-2 ( $f\bar{l}_2$ )	3,57	5,47	2,88			
Cent.-opaco-2 ( $\bar{o}_2$ )	4,53	5,26	3,78			

\*\*: Significativa a 1%.

QUADRO 10 - Porcentagens de lisina na proteína nas sementes das variedades Centralmex normal, Centralmex-farináceo-2 e Centralmex-opaco-2

Espiga (Nº)	Centralmex normal	Centralmex- farináceo-2	Centralmex- opaco-2
1	2,08	3,26	4,60
2	2,32	3,19	4,70
3	2,48	3,13	4,80
4	1,99	3,20	4,46
5	1,99	3,78	4,92
6	2,31	3,24	4,62
7	2,46	3,41	4,72
8	2,10	3,93	4,73
9	2,48	4,21	4,26
10	2,54	2,88	4,48
11	2,46	3,11	5,19
12	2,54	5,47	4,40
13	1,94	3,13	4,51
14	2,85	3,72	4,93
15	2,70	3,25	4,49
16	2,45	4,16	4,49
17	2,17	4,02	4,70
18	2,49	3,63	5,08
19	2,40	3,51	4,65
20	2,41	3,91	4,73
21	2,71	3,86	4,21
22	2,39	3,53	4,69
23	2,00	3,26	3,93
24	2,27	3,66	3,95
25	2,10	3,64	4,24
26	2,27	3,21	3,96
27	2,21	3,06	3,85
28	2,61	3,51	5,26
29	3,14	3,87	3,78
30	3,22	3,49	4,55
Média	2,40	3,57	4,53

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Sementes das variedades Centralmex-opaco-2 e farináceo-2, do 4º retrocruzamento para cada gene foram comparadas com sementes da variedade Centralmex normal, quanto ao peso de 50 sementes, densidade, porcentagem de lisina e de proteína na semente e na porcentagem de lisina na proteína.

As sementes opaco-2 e farináceo-2 pesaram, em média, cerca de 12% menos do que as sementes normais da mesma variedade. Contudo, a grande variação no peso das sementes evidencia possibilidade de seleção para sementes opaco-2 e farináceo-2 de peso igual ou superior ao das sementes Centralmex normais.

Quanto à densidade, a variedade Centralmex normal apresentou sementes mais densas do que as farináceo-2 e estas, maior densidade do que as opaco-2. No entanto, devido à amplitude de variação encontrada, é possível selecionar para sementes opaco-2 e farináceo-2 de maior densidade.

Para porcentagem de proteína nas sementes, não existiu diferença significativa entre as médias das variedades Centralmex normal, opaco-2 e farináceo-2.

As sementes opaco-2 comprovaram o alto teor em lisina apresentando teor de quase duas vezes o do milho normal e com 1/4 a mais do que o farináceo-2.

A variedade Centralmex-opaco-2 apresentou maior porcentagem de lisina na proteína do que as sementes normais, aparecendo as sementes Centralmex-farináceo-2 com um valor intermediário.

## 6. SUMMARY

The genes opaque-2 and floury-2 were independently incorporated into the corn variety Centralmex, and their effects on 50-kernel weight, kernel density and protein and lysine content were noted. Both opaque-2 and floury-2 kernels weighed approximately 12% less than normal kernels, and both were less dense than normal kernels with opaque-2 kernels having the lowest density. There was enough variability in both characteristics, however, to suggest that both kernel weight and density could be improved in the opaque-2 and floury-2 through selection. On a dry weight basis there was no significant difference in protein content between kernel types. Opaque-2 kernels, however, had 100 and 25% more lysine than normal and floury-2 kernels respectively. On a percent protein basis opaque-2 also had the highest and normal kernels the lowest lysine levels.

## 7. LITERATURA CITADA

1. ALEXANDER,D.E. - Problems associated with breeding opaque-2 corns, and some proposed solutions. In: *Proceedings of the High lysine Corn Conference*. Washington, U.S.A. Corn Refiners Association, Inc. 1966. p. 143-147.
2. ALEXANDER, D.E., LAMBERT, R.J. e DUDLEY, J.W. - Breeding problems and potentials of modified protein maize. In: *New Approaches to Breeding for Improved Plant Protein*. Viena, Austria. International Atomic Energy Agency, 1969. p. 55-65.

3. ALVEY, D.D. e HAMILTON, J.R. - Effect of genetic background on the lysine content of corn endosperm homozygous for opaque-2 gene. *Agronomy Abstracts*, U.S.A., p. 3. 1966.
4. BARBOSA, H.M. - *Genes and gene combinations associated with protein, lysine, and carbohydrate content in the endosperm of maize (Zea mays, L.)* U.S.A., Purdue University, 1971. 115 p. (Tese de Ph.D.).
5. MERTZ, E.T., BATES, L.S. e NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, U.S.A. 145:279-280. 1964.
6. NACIF, A.P. *Efeito da introdução dos genes opaco-2 e farináceo-2 sobre características físicas e químicas de milhos tropicais*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1972. 53 p. (Tese de M.S.).
7. NELSON, O.E. - O programa de milho opaco-2 na Universidade de Purdue. In: *Anais de VII Reunião Brasileira do Milho e I Simpósio sobre o Milho Opaco*. Universidade Federal de Viçosa, M.G., Imprensa Universitária. 1971. p. 160-183.
8. NELSON, O.E. - Problemas especiais do melhoramento para qualidade nutritiva. In: *Anais da VII Reunião Brasileira do Milho e I Simpósio sobre o Milho Opaco*. Universidade Federal de Viçosa, M.G., Imprensa Universitária. 1971. p. 301-324.
9. NELSON, O.E., MERTZ, E.T. e BATES, L.S. - Second mutant gene affecting the amino-acid pattern of maize endosperm proteins. *Science*. U.S.A. 150: 1469-1470. 1965.
10. NEUFFER, M.G., JONES, L. e ZUBER, M.S. - *The Mutants of Maize*. Wisconsin, U.S.A., Crop Science Society of America, 1968. 74p.
11. PAEZ, A.V. - Combining ability analysis of kernel components in high lysine corn. *Agronomy Abstracts*, U.S.A. p. 26. 1970.
12. SARAIWA, L.S. *Relação entre peso relativo de sementes e diversas características químicas e físicas no milho opaco-2*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1971. 49 p. (Tese de M.S.).
13. SREERAMULU, C. e BAUMAN, L.F. Yield components and protein quality of opaque-2 and normal diallels of maize. *Crop Science*, U.S.A. 10:262-265. 1970.
14. SREERAMULU, C., BAUMAN, L.F. e GARY ROTH. Effect of outcrossing on protein quality, kernel weight, and related characters in opaque-2 and floury-2 maize (*Zea mays*, L.). *Crop Science*, U.S.A. 10:235-236. 1970.

15. WATSON, S.A. - Comparison of the wet milling properties of opaque-2 and normal dent corn. In: *Proceedings of the High Lysine Corn Conference*. Washington, U.S.A. Corn Refiners Association, Inc., 1966. p.117-120.
16. WICHSER, W.R. - Comparison of the dry milling properties of opaque-2 and normal dent corn. In: *Proceedings of the High Lysine Corn Conference*. Washington, U.S.A. Corn Refiners Association, Inc., 1966. p. 104-116.