

GENE FARINÁCEO-2 AFETANDO CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS
DE MILHOS TROPICAIS*

Antônio de Pádua Nacif
Hélio Moraes Barbosa
John C. Anderson
Luiz Sérgio Saraiva**

1. INTRODUÇÃO

Diversos mutantes de milho (*Zea mays* L.) têm sido estudados, ultimamente, com o intuito de melhorar o valor protéico desta cultura. Entre estes mutantes, o farináceo-2 (*flz*) é um dos que foram relevados a nível superior, em razão da sua capacidade de melhorar a qualidade protéica do milho, fazendo com que endospermas farináceo-2 possuam, aproximadamente, duas vezes mais lisina e triptófano do que o milho normal (6). Diversas outras modificações, decorrentes da ação deste gene foram também observadas.

Visando obter informações a respeito do comportamento do gene *flz* em milhos adaptados às condições brasileiras, foram usados dois compostos, nos quais esse gene foi introduzido, objetivando descrever características físicas e químicas de sementes farináceas, comparadas às normais da mesma espiga.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Sementes homozigóticas, para o gene *flz*, possuem no endosperma maior teor de metionina, lisina e triptófano que as normais (2,6).

Segundo NELSON (4), o gene *flz* somente causa variação na proteína do endosperma, não havendo modificação na proteína do germe, do pericarpo ou de qualquer outra parte da planta.

O gene *flz* tem sido relacionado com um aumento na produção de proteína e lisina na semente e na quantidade de proteína no

* Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Viçosa, como uma das exigências do Curso de Pós-Graduação, para obtenção do Grau de "Magister Scientiae", em Fitotecnia.

Aceito para publicação em 29-12-1973.

** Respectivamente, Engenheiro-Agrônomo, Professor Assistente da Universidade Federal de Viçosa, Pesquisador da Universidade Purdue e Auxiliar de Ensino da Universidade Federal de Viçosa.

germe (5). Endospermas homozigóticos para o gene $f\ell_2$ possuem mais proteína que os normais (3), porém, BARBOSA (1), analisando sementes desgerminadas, não encontrou tal resultado.

O gene $f\ell_2$ acarreta menor densidade da semente (8), menor peso da semente e do endosperma (9).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados dois compostos de milhos tropicais, um dentado e outro duro, nos quais foi introduzido o gene $f\ell_2$, obtendo-se as populações que serão designadas de DENT x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$.

Sementes de aspecto normal, resultantes do 4º retrocruzamento, foram plantadas em novembro de 1970, no Campo Experimental da Genética na Universidade Federal de Viçosa. Foi usado espaçamento de 1,00 m entre fileiras e 0,5 m entre covas, sendo plantadas duas sementes por cova.

Cento e vinte plantas de cada população foram autopolinizadas e, na colheita, retiraram-se, ao acaso, 30 espigas segregantes, para representar cada população, sendo que a única seleção efetuada foi no sentido de evitar que fossem usadas espigas doentes e mal granadas. De cada espiga foram isoladas as seguintes três classes de sementes: com endosperma normal (aspecto vítreo), endosperma farináceo (aspecto opaco) e endosperma tipo intermediário (aspecto semi-opaco).

Cinquenta sementes de cada classe foram separadas, pesadas e determinado seu volume em proveta graduada. A densidade foi, então, obtida através da relação massa/volume de uma amostra de 50 sementes, em gramas/ml.

Procedeu-se à desgerminação em 15 espigas de cada população, usando 30 sementes de cada classe segregante. Embeberam-se as sementes em água destilada, durante oito horas, para facilitar a separação do germe, feita com auxílio de bisturi cirúrgico. O material, após secado, foi pesado em balança eletrônica.

Analisaram-se a proteína e a lisina no germe e na semente desgerminada de todas as classes segregantes observadas. A análise de proteína bruta (N x 6,25) foi feita segundo o método "semimicro Kjeldahl" e a da lisina pelo método colorimétrico da dinitro-piridina, desenvolvido por TSAI e HANSEL (NELSON, 5).

Os dados obtidos foram analisados em Grupos de Experimentos, atendendo ao seguinte esquema:

F.V.	G.L.
População (A)	1
Espiga em População	58
Genótipo (B)	2
Interação A x B	2
Erro	116
Total	<u>179</u>

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Peso Médio das Sementes

Nos dois compostos farináceos, DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$, a ação do gene $f\ell_2$ se fez sentir de modo semelhante, ou seja,

diminuindo, invariavelmente, o peso das sementes, no sentido normal, intermediário e farináceo (quadro 1). Isto evidenciou a capacidade do gene f_{l2} de diminuir o peso da semente, o que está em acordo com SREERAMULU *et alii* (9), e também o seu caráter semidominante, de acordo com NEUFFER *et alii* (7).

Comparadas as classes semelhantes, as DENT. x f_{l2} apresentaram-se mais pesadas que as DURO x f_{l2} .

4.2. Densidade das Sementes

Em consequência da redução do peso das sementes (quadro 1) em maior proporção que o volume, ocorreu decréscimo da densidade das sementes no sentido normal, intermediário, farináceo, evidenciando mudanças na estrutura interna das sementes (quadro 2).

Sementes farináceas apresentaram-se 13,23% e 10,22% menos densas que as normais, no DENT. x f_{l2} e DURO x f_{l2} , respectivamente, em concordância com PAEZ (8).

Em razão do efeito de dosagem, o gene f_{l2} apresentou-se como semidominante sobre o normal.

No composto DENT. x f_{l2} , as sementes farináceas foram sempre menos densas que as normais. No entanto, o mesmo não aconteceu no DURO x f_{l2} , onde foram encontradas sementes farináceas 11% mais densas que as normais da mesma espiga; isto é, particularmente interessante aos trabalhos de melhoramento, pois antevê a possibilidade de obter-se sementes farináceas sem perda da densidade do grão.

Sementes normais DENT. x f_{l2} foram mais densas que as DURO x f_{l2} , mas as intermediárias e farináceas DENT. x f_{l2} não diferiram das DURO x f_{l2} , evidenciando o comportamento parcialmente diferente do gene f_{l2} nos dois compostos.

4.3. Peso da Semente Desgerminada

Dados sobre o peso da semente desgerminada nos compostos farináceos são apresentados no quadro 3.

As sementes desgerminadas normais apresentaram-se mais pesadas que as intermediárias e estas, mais que as farináceas, em ambos os compostos, evidenciando ser o gene f_{l2} semidominante sobre o normal.

Em média, o gene f_{l2} reduziu de 19,5% e de 22,18% o peso da semente desgerminada normal, na classe farinácea, no DENT. x f_{l2} e DURO x f_{l2} , respectivamente, concordando com SREERAMULU *et alii* (9).

As sementes desgerminadas farináceas, DENT. x f_{l2} , apresentaram-se invariavelmente mais leves que as normais, o mesmo não acontecendo com as DURO x f_{l2} , em que foram encontradas sementes desgerminadas farináceas de peso semelhante às normais da mesma espiga.

As sementes desgerminadas DENT. x f_{l2} apresentaram-se mais pesadas que as DURO x f_{l2} , comparadas as classes correspondentes.

4.4. Porcentagem de Proteína no Germe

Nos dois compostos, DENT. x f_{l2} e DURO x f_{l2} , o gene f_{l2} agiu de modo semelhante, aumentando o teor de proteína no germe, no sentido normal, intermediário e farináceo (quadro 4). A

QUADRO 1 - Peso médio das sementes segregantes nos compostos DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$

Classe	Amplitude de variação					
	Peso médio da semente (g)			DURO x $f\ell_2$		
	DENT. x $f\ell_2$	DURO x $f\ell_2$	A-B	DENT. x $f\ell_2$	DURO x $f\ell_2$	Mín.
(A)	(B)			Máx.	Mín.	Mín.
Normal (N)	0,401	0,352	0,049**	0,551	0,212	0,447
Interm. (I)	0,374	0,325	0,049**	0,518	0,209	0,429
Farin. (F)	0,336	0,286	0,050**	0,450	0,205	0,363
N - I	0,027**	0,028**				
I - F	0,038**	0,039**				
N - F	0,065**	0,067**				
I/N	0,932	0,922				
F/I	0,898	0,879				
F/N	0,837	0,810				

C.V. = 4,14%.

** = Significativa ao nível de 1%.

QUADRO 2 - Densidade das sementes segregantes nos compostos DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$

Classe	Densidade da semente (g/ml)		Amplitude de variação			
	DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$	
	(A)	(B)	A-B		Máx.	Mín.
Densidade da semente						
Normal (N)	1,277	1,245	0,032*	1,350	1,201	1,330
Interm. (I)	1,181	1,190	-0,009	1,242	1,113	1,280
Farin. (F)	1,109	1,118	-0,009	1,164	1,038	1,208
N - I	0,096**	0,055**				
I - F	0,072**	0,072**				
N - F	0,169**	0,127**				
I/N	0,924	0,956		0,982	0,865	
F/I	0,939	0,939		1,007	0,870	1,035
F/N	0,868	0,898		0,938	0,807	1,112

C.V. = 3,31%.

*, ** = significativa a 5 e 1%, respectivamente.

QUADRO 3 - Peso das sementes desgerminadas de cada classe segregante nos compostos DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$

Classe	Peso de 30 sementes desgerminadas (g)						Amplitude de variação		
	DENT. x $f\ell_2$			DURO x $f\ell_2$			Máx.	Mín.	
	(A)	(B)	A-B	DENT. x $f\ell_2$	DURO x $f\ell_2$				
Normal (N)	10,58	8,85	1,73*	14,40	6,64	11,63	6,36		
Interm. (I)	9,83	8,03	1,80*	13,08	6,51	10,50	6,03		
Farin. (F)	8,62	6,89	1,73*	11,12	5,19	8,86	5,13		
N - I	0,75*	0,82*							
I - F	1,21*	1,14*							
N - F	1,96**	1,96**							
I/N	0,93	0,91		1,06	0,86	1,00	0,78		
E/I	0,88	0,86		1,01	0,80	1,12	0,74		
F/N	0,81	0,78		0,93	0,73	1,02	0,61		

C.V. = 5,96%

*, ** = significativa a 5 e 1%, respectivamente.

QUADRO 4 - Porcentagem de proteína no germe nos compostos DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$

Classe	% de proteína				Amplitude de variação			
	DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$		DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$	
	(A)	(B)	(A)	(B)	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
Normal (N)	22,11	21,05	1,06	24,11	19,35	22,82	18,07	
Interm. (I)	22,96	21,36	1,60**	27,06	19,70	24,22	16,93	
Farin. (F)	24,49	23,24	1,25*	32,99	21,36	27,81	19,65	
N - I	-0,85	-0,31						
I - F	-1,53**	-1,88**						
N - F	-2,38**	-2,19**						
I/N	1,04	1,01			1,22	0,97	1,12	0,84
F/I	1,07	1,09			1,35	0,84	1,26	0,97
F/N	1,11	1,10			1,37	0,97	1,34	0,90

C.V. = 6,09%

*, ** = significativa a 5 e 1%, respectivamente.

diferença entre a classe normal e a intermediária não foi significativa em nenhum dos compostos. Todavia, a classe farinácea apresentou acréscimo significativo sobre a normal e sobre a intermediária.

Mesmo assim, parece claro o efeito de dosagem do gene fl_2 sobre o teor de proteína do germe. Em relação às normais, a classe farinácea apresentou um acréscimo de 10,5% no DENT. x fl_2 e 10,39% no DURO x fl_2 . Estes resultados são consistentes com os de NELSON (5).

Na classe normal, DENT. x fl_2 e DURO x fl_2 não diferiram entre si, porém, entre as classes intermediárias e farináceas os dois compostos apresentaram significativa diferença, com maior teor no DENT. x fl_2 .

4.5. Porcentagem de Proteína na Semente Desgerminada

O teor de proteína na semente desgerminada não sofreu alteração com a incorporação do gene fl_2 (quadro 5), concordando com os dados obtidos por BARBOSA (1).

Os compostos DENT. x fl_2 e DURO x fl_2 não diferiram entre si, comparadas as classes semelhantes.

4.6. Porcentagem de Lisina no Germe

Os compostos DENT. x fl_2 e DURO x fl_2 reagiram diferentemente à incorporação do gene fl_2 (quadro 6). No composto DENT. x fl_2 ocorreu decréscimo significativo do teor de lisina da classe normal para a intermediária (10%) e ligeiro acréscimo da classe intermediária para a farinácea (3%). Disto resultou que a classe farinácea apresentou 7,4% menos lisina no germe que a normal.

No composto DURO x fl_2 , o teor de lisina na classe intermediária tendeu a decrescer como no DENT. x fl_2 , e, na farinácea, cresceu a um valor mais alto que na classe normal, porém a diferença (5,9%) não foi significativa.

Sendo assim, tornou-se indefinida a ação do gene fl_2 no que diz respeito a dosagens, mas sua expressão na classe farinácea em relação à normal prendeu-se ao "background" genético do material.

Em milho dentado, NELSON (5) encontrou maior teor de lisina no germe farináceo que no normal, o que somente em parte apresenta consistência com os dados obtidos neste trabalho. As sementes normais DENT. x fl_2 apresentaram maior teor de lisina no germe que as DURO x fl_2 , porém, as intermediárias e farináceas não diferiram entre os dois compostos, comparadas as classes semelhantes.

4.7. Porcentagem de Lisina na Semente Desgerminada

Nos dois compostos, o gene fl_2 aumentou o teor de lisina na semente desgerminada no sentido normal, intermediária e farinácea (quadro 7).

Não foi observado caso algum de sementes desgerminadas farináceas com menor teor de lisina que as normais. Em média, a classe intermediária apresentou no DENT. x fl_2 e DURO x fl_2 , respectivamente, 39,4% e 30,2% mais lisina que a normal, e a classe farinácea, 29,4% e 12,5% mais que a intermediária. Tor-

QUADRO 5 - Porcentagem de proteína nas sementes desgerminadas nos compostos DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$

Classe	% de proteína				Amplitude de variação			
	DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$		DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$	
	(A)	(B)	(A)	(B)	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
Normal (N)	11,95	12,11	-0,16	14,43	10,15	13,96	9,30	
Interm. (I)	12,26	12,30	-0,04	14,67	9,90	14,31	9,15	
Farin. (F)	12,00	12,13	-0,13	14,59	9,99	14,61	9,57	
N - I	-0,31	-0,19						
I - F	0,26	0,17						
N - F	-0,05	-0,02						
I/N	1,03	1,02			1,20	0,94	1,21	0,90
F/I	0,98	0,99			1,10	0,81	1,15	0,81
F/N	1,00	1,00			1,12	0,92	1,21	0,75

C.V. = 6,31%

QUADRO 6 - Porcentagem de lisina no germe nos compostos DENT. x fl_2 e DURO x fl_2

% de lisina

Classe	Amplitude de variação					
	DENT. x fl_2			DURO x fl_2		
	(A)	(B)	A-B	DENT. x fl_2	DURO x fl_2	Mín.
Normal (N)	1,646	1,497	0,149**	1,976	1,436	1,668
Interm. (I)	1,480	1,493	-0,013	1,644	1,292	1,816
Farin. (F)	1,524	1,586	-0,062	1,668	1,268	1,976
N - I	0,166**	0,004				
I - F	-0,044	-0,093*				
N - F	0,122**	-0,089				
I/N	0,899	0,967		1,121	0,751	1,128
F/I	1,030	1,063		1,142	0,854	1,284
F/N	0,926	1,059		1,100	0,758	1,310
						0,947

C.V. = 6,90%

*, ** = significativa a 5 e 1%, respectivamente.

QUADRO 7 - Porcentagem de lisina nas sementes desgerminadas nos compostos DENT. x $f\ell_2$ e DURO x $f\ell_2$

Classe	% de lisina		Amplitude de variação						
	DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$		A-B		DENT. x $f\ell_2$		DURO x $f\ell_2$
	(A)	(B)			Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	
Normal (N)	0,139	0,173		-0,034**	0,181	0,103	0,210	0,121	
Interm. (I)	0,193	0,226		-0,033*	0,222	0,151	0,270	0,198	
Farin. (F)	0,250	0,254		-0,004	0,300	0,193	0,365	0,139	
N - I	-0,054**	-0,053**							
I - F	-0,057**	-0,028*							
N - F	-0,111**	-0,081**							
I/N	1,395	1,302			1,878	1,086	1,884	1,029	
F/I	1,294	1,126			1,554	1,000	1,583	0,854	
F/N	1,804	1,466			2,913	1,392	1,983	1,000	

C.V. = 13,38%

*, ** = significativa a 5 e 1%, respectivamente.

nou-se, assim, evidente, o caráter semidominante do gene fl_2 e sua capacidade de aumentar o teor de lisina na semente desgerminada, de acordo com BATES (2) e NELSON *et alii* (6).

Comparações entre os dois compostos indicam maiores teores de lisina nas classes normal e intermediária do DURO x fl_2 , porém a classe farinácea dos dois compostos não diferiram entre si, em virtude do maior acréscimo ocorrido no DENT. x fl_2 .

5. RESUMO E CONCLUSÕES

O gene *farináceo-2* (fl_2) foi introduzido através de quatro retrocruzamentos, em dois compostos de milho adaptados às condições brasileiras, um dentado e outro duro. O objetivo foi analisar os efeitos da introdução desse gene sobre diversas características físicas e químicas de sementes farináceas, comparadas às normais da mesma espiga. Estudaram-se peso e densidade das sementes, peso da semente desgerminada e porcentagens de proteína e lisina, do germe e da semente desgerminada.

O gene fl_2 reduziu o peso e densidade da semente integral e o peso da semente desgerminada.

O gene fl_2 aumentou o teor de proteína no germe, porém, não alterou o teor de proteína da semente desgerminada.

Na semente desgerminada, o gene fl_2 ocasionou aumento da porcentagem de lisina, que no germe apresentou dependência do "background" genético do material.

6. SUMMARY

The maize mutant *floury-2* (fl_2) was introduced by means of four backcrosses into a flint and a dent composite to determine chemical and physical characteristics of floury-2 kernels as compared to normal kernels of the same ear.

The floury-2 gene decreased kernel weight and density, and weight of degenerated kernel. However, it increased percent protein in the germ and percent lysine in the degenerated kernel. Percent protein in degenerated was not affected by the gene. The effect of the gene on percent lysine in the germ varied with the genetic background.

7. LITERATURA CITADA

1. BARBOSA, H.M. Genes and gene combinations associated with protein, lysine, and carbohydrate content in the endosperm of maize (*Zea mays* L.). USA, Purdue University, 1971 115 p. (Tese de Ph.D.).
2. BATES, L.S. Amino Acid Analysis. In: *Proceedings of the High Lysine Corn Conference*. Washington, U.S.A. Corn Refiners Association, Inc., 1966. p. 61-66.
3. JIMENEZ, J.R. Protein fractionation studies of high lysine corn. In: *Proceedings of the High Lysine Corn Conference*. Washington. U.S.A. Corn Refiners Association, Inc., 1966. p. 74-79.

4. NELSON, O.E. O programa de milho opaco-2 na Universidade de Purdue. 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. 160-183.
5. 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.
6. 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.
7. NEUFFER, M.G., JONES, L. e ZUBER, M.S. *The mutants of maize*. Wisconsin, U.S.A. Crop Science Society of America. 1968. 74 p.
8. PAEZ, A.V. Combining ability analysis of kernel components in high lysine corn. *Agronomy Abstracts*. 1970 Annual Meetings. Madison, p. 26. 1970.
9. SREERAMULU, C., BAUMAN, L.F. e GARY, R. 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.