

INFLUÊNCIA DA FONTE POLINIZADORA SOBRE O CONTEÚDO DE ÓLEO EM GRÃOS DE MILHO¹

LUIZ A. ROCHA BATISTA² e GERALDO A. TOSELLO³

RESUMO - Os efeitos da fonte polinizadora sobre a percentagem de óleo em milho (*Zea mays* L.) foram avaliados em grãos provenientes de espigas autofecundadas e de polinização livre. Ambos os tipos de espigas foram obtidos de uma mesma planta, a fim de evitar os efeitos do citoplasma e do genoma materno. Foi usado o germoplasma de milho ESALQ VF 1, de grãos do tipo duro e de cor de laranja. Os resultados obtidos pela análise direta do conteúdo de óleo dos grãos revelaram uma depressão endogâmica de 4%, indicando a participação direta da fonte polinizadora no germoplasma estudado. Em programas de melhoramento, visando o aumento do conteúdo de óleo nos grãos de milho, neste germoplasma, as progênes poderão ser selecionadas, tanto através de sementes autofecundadas, como de polinização livre, pois a correlação linear entre os dois tipos de sementes foi elevada e positiva ($r = 0,67^{**}$). Contudo, o uso de sementes de polinização livre proporciona menores custos operacionais ao programa. Além de possibilitar o ganho de uma geração, exibe considerável variabilidade genética entre sementes da mesma espiga.

Termos para indexação: melhoramento de plantas, endogamia, efeito materno, óleo vegetal, *Zea mays* L.

INFLUENCE OF THE SOURCE OF POLLEN ON THE OIL CONTENT OF MAIZE GRAINS

ABSTRACT - The present study evaluated the effects of source of pollen on the oil content of maize grains (*Zea mays* L.). Seed was used from two ears from the same plant, one that was self-fertilized and the other one open-pollinated. The work was conducted with germplasm ESALQ VF 1, an orange-coloured, hard grain type. The results of the analysis of oil content showed that there was an inbreeding depression of 4%, indicating the effective participation of source of pollen in the germplasm studied. In improvement programs to increase the oil content in maize grains, in this germplasm, progenies can be selected either through self-fertilized seeds or by open-pollination since the linear correlation between the two types of seeds was high and positive ($r = 0.67^{**}$). The use of open-pollinated seed would mean lower operating costs in the program. Since this characteristic is being determined by the genotype of its own seed, it represents available genetic variation between seed of the same ear.

Index terms: plant improvement inbreeding, maternal effect, vegetable oil, *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

A utilização do milho como fonte de óleo na alimentação humana se deve às suas boas qualidades dietéticas, pois apresenta elevado teor de ácidos graxos insaturado, como linolético e oléico.

Os primeiros trabalhos de que se tem notícia para o incremento no conteúdo de óleo de grão

de milho tiveram início no final do século XIX, e foram escritos por C.G. Hopkins. O método empregado por este autor foi a seleção de espiga-por-fileira, com um progresso médio por ciclo aproximado de 5%, após setenta ciclos de seleção (Dudley 1974).

Devido a fatores ambientais e genéticos não controlados, essa seleção de progênes para tal característica é pouco precisa, pois apresenta progressos reais inferiores aos estimados. Uma reavaliação de metodologia de seleção espiga-por-fileira foi realizada por Lonquist (1964) para introduzir modificações capazes de reduzir o efeito do ambiente e, assim, tornar a seleção mais eficiente. A nova técnica foi denominada de seleção espiga-por-fileira modificada. Paterniani (1967) a denominou de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos.

Dentre os principais fatores genéticos não con-

¹ Aceito para publicação em 22 de julho de 1982. Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à Esc. Sup. de Agr. "LUIZ DE QUEIROZ", Univ. de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Agronomia; Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

² Eng^o - Agr^o, Dr. Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC) - EMBRAPA, atualmente no CENARGEN, Caixa Postal 70.2372, CEP 70000, Brasília, DF.

³ Eng^o - Agr^o, Prof., Esc. Sup. de Agric. "LUIZ DE QUEIROZ", Departamento de Genética - Caixa Postal 81, CEP 13400, Piracicaba, SP.

trolados citam-se: genótipo materno, efeito citoplasmático e fonte polinizadora. O efeito materno é relatado por diversos autores como sendo o de influência predominante sobre o conteúdo de óleo nos grãos de milho (Miller & Brinhal 1951, Curtis et al. 1956 e Garwood et al. 1970). Esta influência é resultante de alterações fisiológicas, citoplasmáticas, além do efeito direto do genoma materno sobre o conteúdo de óleo nos grãos de milho.

A influência da fonte polinizadora sobre o conteúdo de óleo no milho é explicada pelo fato de que cerca de 85% do total de óleo do grão está contido no embrião (Leng 1967, Dudley 1974). O embrião é constituído por tecidos, cujas células apresentam uma constituição genética balanceada, isto é, seu núcleo é diplóide ($2n$), em que n cromossomos carrega a estrutura genética materna e n , a paterna. Esta estrutura é diferente da do pericarpo, que é totalmente triploide ($3n$), em que $2n$ são provenientes da parte materna e somente n , da fonte polinizadora.

O presente trabalho objetivou determinar os efeitos da fonte polinizadora sobre o teor de óleo em grãos provenientes de espigas autofecundadas e de polinização livre, originadas de uma mesma planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Como material genético básico, usou-se a população ESALQ VF 1, de milho, originalmente denominada de 'Flint Composto'. Essa população foi obtida no Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, a partir da combinação de populações introduzidas do CIMMYT, as quais apresentam grãos duros, de cor branca e laranja, e são representativas das raças de Cuba, Colômbia e América Central. Foram também incluídas amostras de milho 'Cateto' (Paterniani 1968 e Paterniani et al. 1977). A descrição dessas populações foi realizada por Cunha (1976).

As populações foram intercruzadas e, posteriormente, multiplicadas por três gerações de polinização livre. A partir deste material, efetuaram-se três ciclos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos para produtividade de grãos e características agrônomicas desejáveis, como estatura de planta e ponto de inserção da espiga (Miranda Filho et al. 1972, Lima et al. 1974 e Paterniani 1976).

Uma amostra representativa desta população foi plantada, no ano agrícola de 1978/79, na área experimental do Instituto de Genética, Piracicaba, SP.

Na época do florescimento, todas as espigas foram protegidas, a fim de evitar a polinização natural. As plantas que apresentaram duas espigas foram selecionadas, fazendo-se autofecundação de uma e polinização com mistura de pólen da mesma população na outra. Obtiveram-se, dessa forma, espigas com grãos de autofecundação e de polinização livre, em uma mesma planta.

As polinizações foram feitas aleatoriamente com relação às posições das espigas de cada planta, evitando-se o efeito de posição dentro dos tipos. Foram analisadas 212 plantas, contendo os dois tipos de espigas. Após as espigas serem debulhadas individualmente, suas sementes foram armazenadas em câmara seca para uniformização de umidade a 12%. Selecionaram-se duas amostras com quinze grãos cada uma. Após a moagem, realizou-se a extração do óleo através de solvente, de acordo com Tosello, descrito por Batista (1980). A distribuição de frequência da característica avaliada foi submetida ao teste Kolmogorov-Smirnov (Stephens 1974), sendo considerada normal quando atingiu valores acima de 75% da normalidade.

A análise da variância foi realizada de acordo com o esquema fatorial com observações dentro das subclasses (tipos de espigas). A análise dos efeitos entre e dentro de espigas permitiu avaliar o grau de avariação para um mesmo tipo de polinização. Empregou-se o seguinte modelo linear: $Y_{ijk} = \mu + p_i + d_{(ik)}$; onde Y_{ijk} = valor observado da espiga i , na determinação k ; μ = média geral; p_i = efeito aleatório entre espigas, da espiga i ($i = 1, 2, \dots, 212$); e $d_{(ik)}$ = efeito aleatório dentro das espigas ($k = 1$ e 2). Esta análise permite o cálculo do coeficiente de repetibilidade (r), calculado segundo o esquema de análise interpopulacional (Vencovsky 1977).

A análise de variância de entre tipos de espigas visa avaliar o efeito entre grãos provenientes de espigas autofecundadas e os de polinização livre, para determinar o efeito da fonte polinizadora, de acordo com o seguinte modelo linear: $Y_{ijk} = \mu + p_i + t_j + (pt)_{ij} + d_k(ij)$; onde Y_{ijk} = valor observado na planta i , contendo o tipo de espiga j , na determinação k ; μ = média geral; p_i = efeito aleatório da planta i ; t_j = efeito fixo do tipo de espiga j ($j = 1$ e 2); $(pt)_{ij}$ = efeito aleatório da interação entre a planta i pelo tipo de espiga j ; $d_k(ij)$ = efeito aleatório do erro associado à determinação k , dentro da planta i no tipo de espiga j .

RESULTADOS

A Fig. 1 apresenta os polígonos das frequências relativas a percentagem de óleo dos grãos provenientes de espigas autofecundadas (a) e de polinização livre (b), respectivamente. Estão contidos nesta figura o número de observações avaliadas (N), a estimativa da média aritmética (m), o erro padrão da média ($s(m)$), o coeficiente de variação

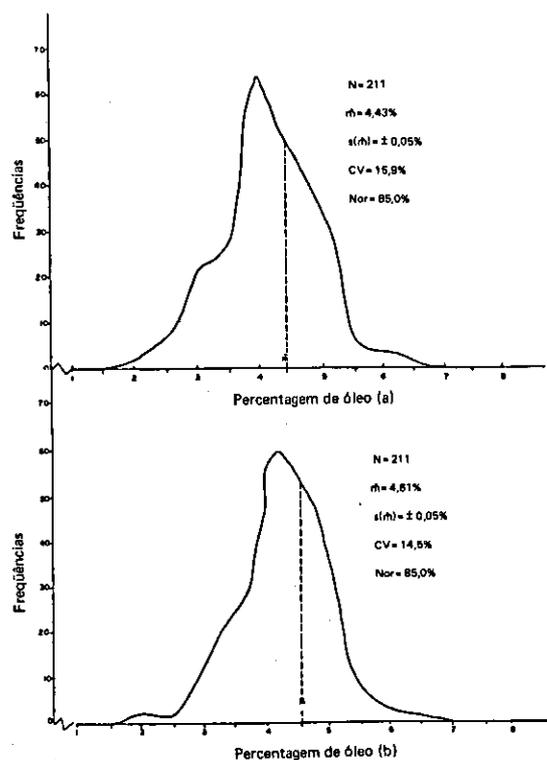


FIG. 1. Polígono de freqüências relativas à percentagem de óleo dos grãos de milho, provenientes de espigas autofecundadas (a) e de espigas de polinização livre (b). Média de determinações.

(CV) e o grau de normalidade (nor.) da curva observada, em relação à curva teórica esperada. A média da percentagem de óleo dos grãos das espigas de polinização livre foi superior à das espigas autofecundadas. O inverso ocorreu com o coeficiente de variação. O erro padrão da média foi semelhante entre os tipos de espigas.

A Tabela 1 apresenta a análise da variância entre e dentro de espigas de polinização livre e de autofecundação. A variação entre espigas de polinização livre, testadas pela variação dentro, de acordo com as esperanças dos quadrados médios, foi significativa ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. Os coeficientes de variação ressaltam esta diferença entre espigas em relação à variação dentro das espigas, apresentando valores de 13,54 e 7,40%, respectivamente. O coeficiente de repetibilidade entre espigas de polinização livre apre-

sentou valor de 76,99%. Para as espigas de autofecundação, os valores dos quadrados médios, embora numericamente superiores aos apresentados pelas espigas de polinização livre, mostram resultados semelhantes àqueles, destacando a elevada variação entre, em relação à variação dentro de espigas. O coeficiente de repetibilidade para este tipo de espigas foi de 74,89%.

Os efeitos de tipos de espigas, significativos ao nível de 1% de probabilidade, são apresentados na Tabela 2, através da análise da variação. O coeficiente de correlação fenotípica entre os tipos de espigas apresentou um $r = 0,67^{**}$, positivo e significativo ao nível de 1% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Embora o conteúdo de óleo em grãos de milho seja uma característica influenciada pelo ambiente (Jellum & Marion 1966, Dudley 1974), a participação da componente genética é a que predomina (Sprague & Brinhall 1950, Poneleit & Bauman 1970). O elevado valor obtido para o coeficiente de repetibilidade em ambos os tipos de espigas, cerca de 75%, mostra que o progresso de seleção, para o aumento do conteúdo de óleo nesta, deve ser elevado, independente da estrutura de famílias das progênies.

Os efeitos detectados através da diferença entre os grãos provenientes de espigas autofecundadas e os de espigas de polinização livre mostram haver variação para grãos originados de pólenes diferentes, embora a influência materna seja ainda preponderante.

Os resultados mostrando a depressão endogâmica concordam com os obtidos por Ashby (1930). Considerando que a constituição gênica dos tecidos embrionários da semente é formada por 50% da fonte materna e 50% da paterna, a influência da fonte polinizadora sobre o conteúdo de óleo nos grãos de milho é direto, já que a maior parte deste óleo está contida no embrião. Resultados mostrando efeitos semelhantes da fonte polinizadora sobre o conteúdo de óleo em milho foram apresentados por Miller & Brinhall 1951, Curtis et al. (1956), Alexander & Lambert (1968) e Garwood et al. (1970), em diferentes germoplas-

TABELA 1. Análise da variância, coeficientes de variação (CV%), entre e dentro de espigas, e coeficiente de repetibilidade (r) entre espigas, relativos às determinações realizadas entre e dentro de espigas de polinização livre e de autofecundação.

Fonte de variação	GL	Polinização livre			Autofecundação			E(Q.M.)
		QM	CV%	r%	QM	CV%	r%	
Entre	210	0,8963*	13,54	76,99	0,9877*	14,68	74,89	$\frac{2}{\sigma_d} + 2\sigma_e^2$
Dentro	211	0,1165	7,40	-	0,1418	8,51	-	$\frac{2}{\sigma_d}$
Total	421	-	-	-	-	-	-	-

* Significativo pelo teste F (P = 1%)

TABELA 2. Análise de variância entre tipos de espigas para o caráter percentagem de óleo em grãos de milho, considerando fixo o efeito de tipos de espigas.

Fontes de variação	GL	QM	E (Q.M.)	CV (%)
Plantas	209	1,5722*	$\sigma_d^2 + 4\sigma_p^2$	13,29
Tipos de espigas	1	6,9137*	$\sigma_d^2 + 2\sigma_e^2 + 418 V_t$	2,78
Resíduo entre	209	0,3138*	$\sigma_d^2 + 2\sigma_e^2$	6,71
Resíduo dentro	420	0,1297	σ_d^2	7,97
Total	839	-	-	-

* Significativo pelo teste F (P = 1%)

mas de milho. Esse efeito da fonte polinizadora sobre o tecido embrionário é definido com metaxenia (Brink & Cooper 1947).

Embora a fonte polinizadora influencie o conteúdo de óleo nos grãos de milho, o efeito principal é o da fonte materna, como demonstra a elevada correlação observada entre os dois tipos de grãos avaliados. Esse mesmo efeito foi detectado nos trabalhos de Alexander & Lambert (1968), Garwood et al. (1970), Poneleit & Bauman (1970) e Ruskova (1974). Essa maior influência materna vem confirmar a hipótese de Wolfe et al. (1942), de que a semente é o local de síntese do óleo e que se desenvolve a partir de tecido materno.

As mitocôndrias e os cloroplastos são sítios primários da síntese do óleo (Stumpf & James 1963), o que permite explicar o maior efeito da fonte materna sobre o seu controle, pois as organelas estão contidas no citoplasma e este é proveniente

da planta-mãe. Como a atividade da síntese de ácidos graxos é governada pela quantidade de ATP, Mn^{++} , coenzima A acetatos, glicerol e outros componentes que participam da síntese de óleo (Barren et al. 1961, Hawke & Stumpf 1965), o genótipo materno pode exercer uma influência maior sobre o conteúdo de óleo da semente do que o genótipo desta.

O emprego de sementes de autofecundação, para a escolha de progênies, e a recombinação destas a partir de sementes de polinização livre mostram que, por esse método de seleção, é possível o ganho de uma geração, já que ambos são eficientes para elevar o teor de óleo. Contudo, é preferível o emprego de sementes de polinização livre para a seleção e recombinação de progênies, já que esta metodologia torna o programa mais exequível, devido ao seu menor custo operacional, do que quando se usam sementes de autofecundação.

CONCLUSÕES

1. A análise direta de sementes autofecundadas, em relação às de polinização livre, revelou um efeito de depressão por endogamia de 4% para o teor de óleo dos grãos de milho provenientes do germoplasma ESALQ VF 1.

2. A população estudada apresentou coeficiente de repetibilidade em torno de 75% do seu valor máximo, para sementes de polinização livre e de autofecundação. Isto torna possível a utilização de tal população em programas que visem a elevação do conteúdo de óleo nos grãos de milho.

3. A avaliação do conteúdo de óleo de germoplasma de milho estudado deve ser feita através de grãos provenientes de polinização livre, para que não haja efeitos de endogamia, provocados pelo uso de grãos de autofecundação.

4. Em trabalhos de melhoramento, as sementes deverão ser obtidas em lotes isolados de polinização, a fim de que não ocorram efeitos de contaminação por outras fontes de pólen. Porém a seleção de progênies pode ser feita tanto através de sementes de autofecundação, como de polinização livre, pois a correlação fenotípica linear existente entre os dois tipos foi significativa e positiva.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, D.E. & LAMBERT, R.J. Relationship of kernel oil content to yield in maize. *Crop Sci.*, Madison, 8(3): 273-4, 1968.
- ASHBY, E. Studies in the inheritance of physiological characters. I. A physiological investigation of the nature of hybrid vigour in maize. *Ann. Bot.*, Londres, 44(4): 457-67, 1930.
- BATISTA, L.A.R. Seleção para tamanho do embrião relacionada com o teor de óleo do grão de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, ESALQ, 1980. 72p. Tese Mestrado.
- BARREN, E.T.; SQUIRES, C. & STUMPF, P.K. Fat metabolism in higher plants. XV. Enzymatic synthesis of fatty acids by an extract of avocado mesocarp. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, 236: 2610-14, 1961.
- BRINK, R.A. & COOPER, D.C. The endosperm in seed development. *Bot. Rev.*, New York, 13(2): 423-54, 1947.
- CUNHA, M.A.P. Seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos no milho (*Zea mays* L.) ESALQ HV-1. Piracicaba, ESALQ, 1976. 71p. Tese Doutorado.
- CURTIS, J.J.; BRUNSON, A.M.; HUBBARD, J.E. & EARLE, F.R. Effect of the pollen parent on oil content of corn kernel. *Agron. J.*, Madison, 48(12): 551-5, 1956.
- DUDLEY, J.W., ed. Seventy generation of selection for oil and protein in maize. Madison, Wisconsin, Crop Science Society of America, 1974. 212p.
- GARWOOD, D.L.; WEBER, E.J.; LAMBERT, R.J. & ALEXANDER, D.E. Effect of different cytoplasm on oil, fatty acids, plant height, and ear height in maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, Madison, 10(1): 39-41, 1970.
- HAWKE, J.C. & STUMPF, P.K. Fat metabolism in higher plants. XXVII. Synthesis of long-chain fatty acids by preparations of *Hordeum vulgare* L. and other *Gramineae*. *Plant Physiol.*, Maryland, 40(6): 1023-32, 1965.
- JELLUM, M.D. & MARION, J.E. Factors affecting oil content and oil composition of corn (*Zea mays* L.) grain. *Crop Sci.*, Madison, 6(1): 41-2, 1966.
- LENG, E.R. Changes weight, germ ratio and oil content during kernel development in height oil corn (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, Madison, 7(4): 333-4, 1967.
- LIMA, M.; PATERNIANI, E. & MIRANDA FILHO, J.B. Avaliação de progênies de meios-irmãos no segundo ciclo de seleção em dois compostos de milho. *Relat. Ci. Instit. Genét.*, Piracicaba, 8: 78-85, 1974.
- LONNQUIST, J.H. A modification of the ear-to-row procedure for the improvement of maize populations. *Crop Sci.*, Madison, 4(2): 227-8, 1964.
- MILLER, P.A. & BRINHALL, B. Factors influencing the oil and protein content of corn grain. *Agron. J.*, Madison, 42(7): 305-11, 1951.
- MIRANDA FILHO, J. B.; VENCOSKY, R. & PATERNIANI, E. Variância genética aditiva da produção de grãos em dois compostos de milho e sua implicação no melhoramento. *Relat. Ci. Inst. Genét.*, Piracicaba, 6: 67-73, 1972.
- PATERNIANI, E. Formação de compostos de milho. *Relat. Ci. Instit. Genét.*, Piracicaba, 2: 102-8, 1968.
- PATERNIANI, E. Seleção entré e dentro de famílias de meios-irmãos nas populações 'Dentado Composto' e 'Flint Composto'. *Relat. Ci. Instit. Genét.*, Piracicaba, 10: 161-6, 1976.
- PATERNIANI, E. Selection among and within half-sib families in a Brazilian population of maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, Madison, 7(5): 212-6, 1967.
- PATERNIANI, E.; ZINSLY, J.R. & MIRANDA FILHO, J.B. Populações melhoradas de milho obtidas pelo Instituto de Genética. *Relat. Ci. Instit. Genét.*, Piracicaba, 11: 108-4, 1977.
- PONELEIT, C.G. & BAUMAN, L.F. Diallel analyses of fatty acids corn (*Zea mays* L.) oil. *Crop Sci.*, Madison, 10(4): 338-41, 1970.
- RUSKOVA, K. The effect of the direction of the cross on oil, protein and lysine content in the grain of maize. *Plant Breed. Abstr.*, 4(7): 5368, 1974.

- SPRAGUE, G.F. & BRINHALL, B. Relative effectiveness of two systems of selection for oil content of the corn kernel. *Agron. J.*, Madison, 42(2): 83-8, 1950.
- STEPHENS, M.A. EDF, statistics for goodness of fit and some comparisons. *J. Am. Stat. Assoc.*, Washington, 69(347): 730-7, 1974.
- STUMPF, P.K. & JAMES, A.T. The biosynthesis of long chain fatty acids by lettuce chloroplast preparations. *Biochem. Biophys. Acta*, Amsterdam, 70(1): 20-3, 1963.
- VENCOVSKY, R. Princípios de genética quantitativa. Piracicaba, 1977. v. 16, p.47-56. Publicação Didática do Departamento de Genética.
- WOLFE, A.C.; PARK, J.B. & BURREL, R.C. A study of the chemical composition of soybeans during maturation. *Plant Physiol.*, Maryland, 17(2): 289-95, 1942.