

POLIEMBRIONIA NO MILHO "DENTADO COMPOSTO"¹

JAIRO SILVA², RICARDO MAGNAVACA³ e ADELSON DE BARROS FREIRE⁴

Sinopse

A frequência de poliembrionia no milho Dentado Composto foi estudada em três gerações de autofecundação com controle de progênie.

As sementes foram colocadas em germinadores, de acordo com as normas para análise de sementes. As sementes com coleóptilos e raízes primárias múltiplas foram transplantadas para vasos na casa de vegetação e dois para canteiros.

O aumento de frequência de plântulas múltiplas de S₀ S₂, de mais de 500 vezes, indicada a hereditariedade do caráter.

Correlação de poliembrionia com prolificidade e com teor de óleo e proteína equilibrada são indicados como novas áreas de pesquisas, de interesse para o melhoramento do milho.

INTRODUÇÃO

Poliembrionia, ou ocorrência de mais de um embrião na semente, foi descoberta em citrus por Leeuwenhoek em 1719 e tem sido revista por diversos autores (Wardlaw 1955).

Randolph (1936) estudou poliembrionia em diversas variedades de milho e observou que a frequência de plântulas múltiplas aumentou com tratamento por raios-X. Fêz a hipótese de que as plântulas duplas provêm de um único zigoto, em vista do pericarpo e endosperma das cariopses estudadas não apresentarem evidência de multiplicidade. Além disso, as plantas originadas de plântulas múltiplas apresentaram-se bastante homogêneas, mesmo em variedades extremamente heterozigotas. A clivagem do embrião jovem é sugerida para explicação da poliembrionia em milho. Mencionou o autor casos de grãos conatos parcial ou completamente e o tipo de plântulas dêles originados.

Johansen (1950) discutiu o conceito de poliembrionia, sugerindo o uso do termo apenas nos casos de desenvolvimento de mais de um embrião originados de um único zigoto. Por exemplo, se um dos dois embriões é diplóide e o outro haplóide, sendo o primeiro originário da fecundação da oosfera e o segundo por apomixia de uma das sinérgidas, segundo

este autor trata-se de embriogenia normal acompanhada de "apogametia". Entretanto, esta nomenclatura não tem sido seguida, utilizando-se a palavra poliembrionia de uma maneira geral, de acordo com o conceito original. O autor indicou a clivagem do proembrião ou do embrião jovem como de ocorrência provável em milho.

Morgan e Rappleye (1951) estudaram a frequência de sementes chamadas de poliembriônicas em *Zea mays* L. e *Lilium regale* Wills, obtidas por fecundação com pólen submetido a raio-X em diferentes doses. Concluíram que a frequência de tais sementes aumentou notavelmente com as doses de raios-X. Concluíram ainda que os tipos observados de plântulas múltiplas foram semelhantes as plântulas múltiplas normais. Contagens de cromossomas feitas em pontas de raízes das plântulas múltiplas apresentaram números sempre diferentes do número diplóide. Os autores indicaram a clivagem do embrião durante o desenvolvimento como causa da poliembrionia encontrada em milho.

Wardlaw (1955) apresentou uma revisão sobre poliembrionia em diferentes espécies, indicando hipóteses para explicação de diferentes tipos de plântulas múltiplas, já observados por diversos pesquisadores. Mencionou a clivagem do zigoto ou do proembrião como fenômeno comum em ginóspERMAS e raro em angiospERMAS.

Judin e Hvatova (1965), examinando 182.745 plântulas de 10 cultivares diplóides de milho, encontraram 55 casos de plântulas múltiplas, sendo 51 duplos e 4 triplos. Mais de 80% dos casos examinados citologicamente foram de gêmeos diplo-diplóides.

¹ Recebido 13 mai. 1970, aceito 29 jun. 1970.

² Eng.º Agrônomo, Pesquisador em Agricultura da Seção de Fitotecnia e Genética do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Oeste (IPEACO), Caixa Postal 151, Sete Lagoas, Minas Gerais.

³ Eng.º Agrônomo do Setor de Milho do IPEACO, Sete Lagoas, Minas Gerais.

⁴ Eng.º Agrônomo, Pesquisador em Agricultura do Laboratório de Sementes do IPEACO, Sete Lagoas, Minas Gerais.

Todos os haplóides reproduziram os caracteres recessivos da planta mãe e foram, segundo os autores, resultado de apomixia. Todos os diplóides foram híbridos naturais. Em um par, onde o homocigoto "liguleless" tinha sido polinizado por pólen heterocigoto para este caráter, um dos gêmeos era "liguleless" e outro não.

A poliembrião tem sido estudada em outras gramíneas tais como centeio (Morey & Morey 1959), *Agropyron* (Dewey 1964), aveia (Nishiyama *et al.* 1968), *Pennisetum typhoides* (Burm.) Stapf et C.E. Hubb. (Powell & Burton 1968). A não ser na aveia, em que a frequência de diplo-aneuplóides é próxima da de diplo-diplóides, a ocorrência de plântulas duplas diplo-diplóides representa a maioria dos casos de poliembrião. A frequência de diplo-haplóides, apesar de baixa em tôdas as espécies de gramíneas mencionadas, tem despertado o interesse de melhoristas para a obtenção de linhagens homocigotas. Em milho, a possibilidade de utilização de haplóides na obtenção de linhagens homocigotas, foi bastante estudada, principalmente por Chase e colaboradores (Chase 1952).

A hipótese de transmissão hereditária da característica poliembriônica tem sido frequentemente aventada em outras gramíneas (Morey & Morey 1959; Dewey 1964; Powell & Burton 1968).

No presente trabalho procurou-se verificar a frequência da ocorrência do fenômeno de poliembrião no milho Dentado Composto e a hipótese da hereditariade da poliembrião na espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi feita coleta das amostras de sementes do milho Dentado Composto produzido no IPEACO, safra de 1966/67, de acôrdo com as Regras para Análises de Sementes (Bacchi 1963). Pelo teste de carunchamento foram eliminadas as sementes infestadas.

As amostras foram homogeneizadas e divididas pelo "Precision Divider", colocadas a germinar em germinador Stults Scientific Eng. Corporation. O substrato utilizado foi papel toalha "Xuga". Os limites de temperatura durante a germinação foram de 22 e 28°C. Foram postas a germinar 10 repetições de 100 sementes, diariamente. As contagens foram realizadas com 5 dias, anotando-se plântulas normais, anormais e sementes mortas.

Foram aproveitadas, no grupo de plântulas normais, tôdas aquelas que apresentaram coleótilos e raízes primárias múltiplas. Essas plantas foram transplantadas para vasos de Mitscherlich, conservadas em casa de vegetação e posteriormente transplantadas para canteiros ao ar livre.

Nos canteiros as plântulas originárias de uma mesma semente ficaram juntas na mesma cova. Foi feita autofecundação das plantas que apresentaram inflorescência feminina e masculina normais. Os filhos que eventualmente produziram inflorescências normais também foram autofecundados. As progênies foram identificadas e registradas, sendo possível traçar a descendência após qualquer número de gerações.

As sementes mono-embriônicas foram plantadas separadamente e constituíram uma população testemunha para verificação da influência do ambiente sobre a poliembrião.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 1 apresenta as frequências observadas de plântulas normais, plântulas anormais, sementes mortas e de plântulas múltiplas, em cada geração.

QUADRO 1. Resultados de análise de sementes em 3 gerações sucessivas do milho Dentado Composto 1967-1969

| Geração | Número de sementes analisadas | Plântulas normais (%) | Frequência de ocorrências | | |
|----------------|-------------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------|--|
| | | | Plântulas anormais (%) | Sementes mortas (%) | Plântulas múltiplas ($\times 10^{-4}$) |
| S ₀ | 29.800 | 96,93 | 0,51 | 2,56 | 1,34 |
| S ₁ | 3.525 | 93,84 | 3,06 | 2,92 | 37,00 |
| S ₂ | 3.160 | 87,22 | 3,61 | 9,19 | 759,00 |

O aumento observado na frequência de plântulas múltiplas indica a transmissão hereditária do caráter, hipótese já aventada por outros pesquisadores. Esses resultados são, entretanto, uma evidência um pouco mais forte da hereditariade do caráter, pelo fato de haverem sido conduzidas duas gerações de autofecundação, com controle das progênies. A frequência de plântulas múltiplas observada na geração S₀ é comparável à relatada por Judin e Hvatova (1965) como média de dez cultivares de milho. A frequência observada de $19,2 \times 10^{-4}$ plântulas múltiplas na população testemunha em 19.200 cariopses analisadas, é mais uma indicação da hereditariade do caráter, pois a frequência na população S₂, originada de cariopses poliembriônicas, de 759×10^{-4} , é muito mais elevada.

A frequência de plântulas anormais apresentou um aumento considerável de S₀ para S₁ e desprezível de S₁ para S₂. A frequência observada na população testemunha (3,54%) foi semelhante à verificada na geração S₂ (3,61%).

A frequência de sementes mortas apresentou aumento de S₁ para S₂. A população testemunha apresentou em S₂ frequência muito baixa de sementes mortas. Se plântulas múltiplas e sementes mortas

são características correlacionadas, esta correlação deve ser baixa tendo em vista os respectivos aumentos por geração de autofecundação.

A Fig. 1 mostra um cariopse com plântulas duplas.

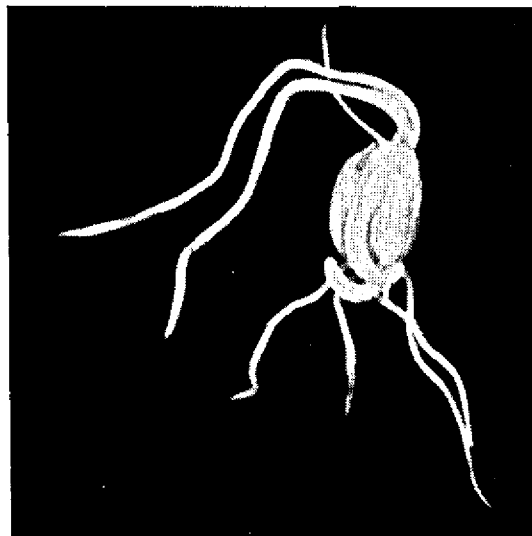


FIG. 1. Cariopse de milho Dentado Composto com plântulas duplas.

A Fig. 2 apresenta plântulas duplas, sendo que uma delas mostra bifurcação.

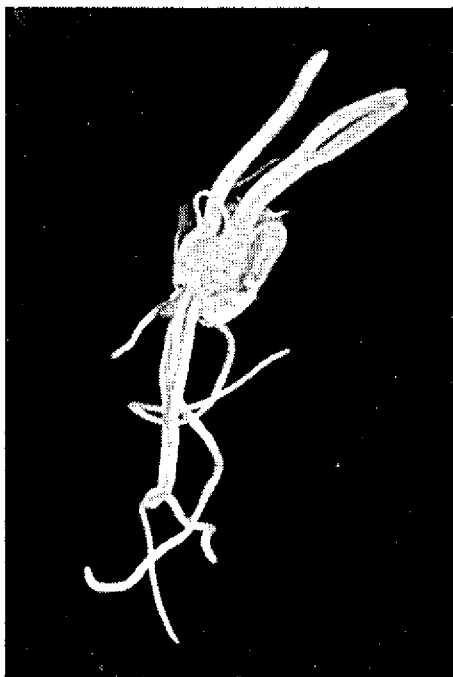


FIG. 2. Cariopse de milho Dentado Composto com plântulas duplas e bifurcação.

A Fig. 3 apresenta um caso de sementes conatas, ou seja, duas sementes com pericarpo comum. Observa-se facilmente que os coleóptilos e raízes primárias saem de pontos opostos.

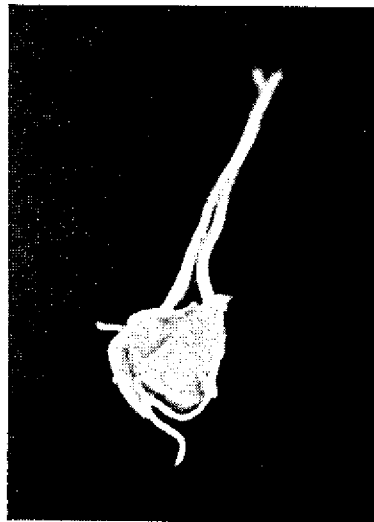


FIG. 3. Cariopse de milho Dentado Composto com sementes conatas.

A Fig. 4 apresenta três plantas oriundas de plântulas duplas com um perfilho. As plantas são muito semelhantes, vigorosas e representativas do composto em estudo.

Poucos casos de esterilidade masculina foram observados. Plantas sem espigas também apresentaram baixa frequência. Tudo indica que a maior frequência de plântulas duplas seja do tipo diplo-diplóide, favorecendo a hipótese da clivagem do proembrião ou do embrião jovem, aventada por diversos pesquisadores.

Plântulas duplas diplo-haplóides poderiam se originar da fertilização normal da oosfera e apomixia de uma das sinérgidas. Entretanto, monoplóides em milho são geralmente mais tardios no desenvolvimento, produzindo plantas geralmente mais fracas, fato não observado no material estudado. A verificação destas hipóteses poderia ser feita através de contagem de cromossomas e pela utilização de marcadores genéticos apropriados.

A denominação de poliembriónia parece-nos, pois, apropriada à descrição do fenômeno que dá origem a mais de uma plântula por semente no milho, de acordo com a nomenclatura sugerida por Johansen (1950).

As possibilidades de utilização de poliembriónia no melhoramento do milho são ainda remotas. Algumas hipóteses podem, entretanto, ser aventadas. O



FIG. 4. Três plantas de milho Dentado Composto oriundas de plântulas duplas com um perfilho.

valor nutritivo da semente poderia ser melhorado pelo aumento da proporção embrião/endosperma, tendo em vista a maior riqueza do embrião e tecidos adjacentes em substâncias essenciais. A correlação entre o volume dos embriões e o teor de óleo e proteína balanceada favoreceria provavelmente uma seleção de milho de mais alto valor nutritivo.

A exploração da prolificidade como característica desejável, proporcionando maior adaptabilidade às populações de milho, é outro aspecto a ser estudado com referência a sementes poliembriônicas. A possibilidade de obtenção de uma população com alta frequência de sementes poliembriônicas aproveitaria provavelmente ao máximo a prolificidade, pois, de cada semente plantada poderiam ser obtidas duas ou mais plantas, cada uma com duas ou mais espigas. A vantagem da poliembryonia sobre o perfilhamento e multiplicidade de espigas numa mesma planta seria a independência relativa das plantas irmãs, após o crescimento.

A utilização de monoplóides na obtenção de linhagens homozigotas em milho poderia ser uma consequência da seleção de sementes poliembriônicas. Progressos recentes obtidos no melhoramento de populações de milho fazem, entretanto, diminuir o interesse prático desta possibilidade.

CONCLUSÕES

1. A frequência de plântulas múltiplas encontradas na geração S_0 do milho Dentado Composto foi semelhante à descrita por Judin e Hvatova (1965) para diferentes cultivares de milho, da ordem de grandeza de 1×10^{-4} .

2. O caráter poliembryonia mostrou ser hereditário pelo grande aumento de frequência após duas gerações sucessivas de autofecundação.

3. As frequências de sementes mortas e plântulas anormais apresentaram aumento, com as gerações de autofecundação, muito inferior ao observado para plântulas múltiplas.

4. Correlação do caráter poliembryonia com prolificidade e com teor de óleo e proteína equilibrada na cariopse de milho são novas áreas de pesquisa interessantes para o melhoramento.

REFERÊNCIAS

- Bacchi, O. 1963. Regras para análise de sementes. Secret. Agric. S. Paulo. 53 p.
- Chase, S.S. 1952. Monooids in maize, p. 389-399. In Gowen, J.W. (ed.) Heterosis, Iowa State College Press, Ames.
- Dewey, D.R. 1964. Polyembryony in *Agropyron*. *Crop Sci.* 3:313-317.
- Johansen, D.A. 1950. Plant embryology (embryogeny of the spermatophyta). *Chronica Botanica Co.*, Waltham, Mass. U.S.A. 305 p.
- Judin, B.F. & Hvatova, M.N. 1965. Cytogenetic study of twin plants in diploid and tetraploid maize. *Genetika Moskva* 1965: 131-137. (*Plant Breeding Abstr.* 36(3), n.º 3838)
- Morgan, D.T. & Rappleye, R.D. 1951. Polyembryony in maize and lily following X-irradiation of the pollen. *J. Hered.* 42:90-93.
- Morey, D.D. & Morey, J. 1959. Polyembryony in american rye varieties. *Agron. J.* 51:669-672.
- Nishiyama, I., Tabata, M., Forsberg, R.A. & Shands, H.L. 1968. Twinning and chromosome anomalies in Kanota oats. *Crop Sci.* 8:603-606.
- Powell, J.B. & Burton, G.W. 1968. Polyembryony in pearl millet. *Crop. Sci.* 8:771-773.
- Randolph, L.F. 1936. Developmental morphology of the cariopsis in maize. *J. agric. Res.* 53(12):881-916.
- Wardlaw, C.W. 1955. Embryogenesis in plants. Wiley, New York. 381 p.

POLYEMBRYONY IN "DENT COMPOSITE" MAIZE

Abstract

The frequency of polyembryony in "Dent Composite" maize was studied during three generations of controlled progeny self-pollination.

Following established norms for seed testing, the seeds were placed in germinators. Seeds with multiple coleoptiles and primary roots were transplanted to Mitscherlich pots in the greenhouse and later to field plots.

The increase of the multiple seedling frequency from S_0 to S_2 , greater than 500 times, indicates the hereditability of the character.

Correlation between polyembryony and prolificness and with oil and balanced protein content are suggested as new areas of research of interest for corn breeding.