

**ACÚMULO DE PROTEÍNA DURANTE O DESENVOLVIMENTO
DO ENDOSPERMA EM PROGÊNIES S₂ DE MILHO
NORMAL (*Zea mays*, L.)**

AFONSO CELSO MONTEIRO

Engenheiro Agrônomo
SEMENTES CARGILL LTDA.

Orientador: GERALDO ANTONIO TOSELLO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Abril, 1982

A você,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

O autor deseja expressar seus agradecimentos às seguintes pessoas e Instituições:

- Professor Doutor *Geraldo Antonio Tosello*, na qualidade de orientador;
- *Maria José*, pelo estímulo e compreensão;
- *Fundação Cargill*, na pessoa de seu Presidente, Dr. *Glauco Pinto Viegas*, pela doação de Bolsa de Estudo, durante o Curso de Pós-Graduação;
- *Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, pelo financiamento parcial deste trabalho;
- *Sementes Cargill Ltda.*, na pessoa de seu Gerente Técnico, Dr. *Delmo Diogo Rodrigues*, pelo estímulo e facilidades concedidas durante a elaboração deste trabalho;
- *Colegas* do Curso de Pós-Graduação, pela colaboração e amizade dedicadas durante o Curso.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	xi
SUMMARY	xv
.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL	17
4. MÉTODOS	24
4.1. Metodologia de Campo	24
4.2. Metodologia de Laboratório	26
4.3. Estimativa dos Parâmetros Estatísticos	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Peso de 20 Grãos	31
5.2. Peso de 20 Endospermas	36
5.3. Peso de 20 Germens	38
5.4. Porcentagem de Germem no Grão	40
5.5. Porcentagem de Proteína no Endosperma	42
5.6. Porcentagem de Triptofano	48
5.7. Porcentagem de Triptofano na Proteína	52
6. CONCLUSÕES	57
7. LITERATURA CITADA	60
8. APÊNDICE	70
Apêndice 1: Determinação de Proteína	71
Apêndice 2: Determinação de Triptofano	74
9. FIGURAS	76
10. TABELAS	92

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela</u>	<u>Página</u>
1 - Análise da variância obedecendo ao esquema de parcelas subdivididas, indicando a obtenção dos graus de liberdade existentes	28
2 - Desdobramento dos graus de liberdade do tratamento B	29
3 - Desdobramento dos graus de liberdade da interação A x B	30
4 - Desdobramento dos graus de liberdade da interação B x C	30
5 - Peso médio de 20 grãos, para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S ₂ pertencentes aos Compostos Dentado e Flint (gramas)	93
6 - Análise da variância para peso de 20 grãos, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso, com duas repetições	94
7 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para peso de 20 grãos, obtidos de progênies S ₂ dos Compostos Dentado e Flint (gramas)	95
8 - Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o caracter peso de 20 grãos (g)	96

Tabela

Página

9 -	Peso médio de 20 endospermas para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S_2 , pertencentes ao composto Dentado e Flint (gramas)	97
10 -	Análise da variância para peso de 20 endospermas + pericarpo, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaço, com duas repetições	98
11 -	Médias referentes ao tratamento: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para peso de 20 endospermas, obtidas de progênies S_2 dos compostos Dentado e Flint (gramas)	99
12 -	Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o caracter peso de 20 endospermas	100
13 -	Peso médio de 20 germens para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S_2 pertencentes ao Composto Dentado e Flint (gramas)	101
14 -	Análise da variância para peso de 20 germens, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaço, com duas repetições	102
15 -	Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para peso de 20 embriões, obtidos de progênies S_2 dos compostos	

Tabela

Página

	Dentado e Flint (gramas)	103
16 -	Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o ca rater peso de 20 germens	104
17 -	Porcentagem média de germem no grão, para 7 diferentes <u>é</u> pocas de colheita, em três densidades de plantio, obti- das de 8 progênes S ₂ pertencentes ao Composto Dentado e Flint	105
18 -	Análise da variância para porcentagem de germem no grão, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso, com duas repetições	106
19 -	Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcenta- gem de embrião no grão	107
20 -	Porcentagem média de proteína no endosperma, para 7 dife- rentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidos de 8 progênes S ₂ pertencentes ao composto Denta- do e Flint	108
21	Análise da variância para porcentagem de proteína no en- dosperma, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divi- didas em blocos ao acaso, com duas repetições	109
22	Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcenta-	

Tabela

Página

	gem de proteína no endosperma	110
23 -	Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o ca racter porcentagem de proteína no endosperma	111
24 -	Porcentagem média de triptofano para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S ₂ pertencentes ao composto Dentado e Flint .	112
25 -	Análise da variância para o caracter porcentagem de trip tofano, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-dividi das, em blocos ao acaso, com duas repetições	113
26 -	Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcenta gem de triptofano	114
27 -	Porcentagem média de triptofano na proteína, para 7 dife rentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S ₂ pertencentes ao composto Denta do e Flint	115
28 -	Análise de variância para porcentagem de triptofano na proteína, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divi didas, em blocos ao acaso, com duas repetições	116
29 -	Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcenta gem de triptofano na proteína	117

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	- Acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado	77
2	- Acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do endosperma tipo Flint	78
3	- Acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do endosperma tipo Dentado	79
4	- Porcentagem de germen no grão em material Flint, durante o desenvolvimento do endosperma	80
5	- Porcentagem de germen no grão em material Dentado, durante o desenvolvimento do endosperma	81
6	- Porcentagem de germen no grão em material Flint e Dentado, durante o desenvolvimento do endosperma	82
7	- Acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma tipo Flint	83
8	- Acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma tipo Dentado	84
9	- Acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado	85

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
10	- Porcentagem de triptofano durante o desenvolvimento do <u>en</u> dosperma tipo Flint	86
11	- Porcentagem de triptofano durante o desenvolvimento do <u>en</u> dosperma tipo Dentado	87
12	- Porcentagem de triptofano durante o desenvolvimento do <u>en</u> dosperma nos grupos Flint e Dentado	88
13	- Porcentagem de triptofano na proteína total, durante o <u>de</u> senvolvimento do endosperma tipo Flint	89
14	- Porcentagem de triptofano na proteína total, durante o <u>de</u> senvolvimento do endosperma tipo Dentado	90
15	- Acúmulo de triptofano na proteína total, durante o <u>desen</u> volvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado	91

CURRICULUM VITAE

Afonso Celso Monteiro, filho de José Oswaldo Monteiro e de Anna Helena Malta Monteiro, nasceu aos 07 de março de 1955, na cidade de Campinas, Estado de São Paulo. Iniciou e completou os estudos básicos em Campinas. Graduou-se em Engenharia Agrônômica em dezembro de 1977, pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, S.P.

Em março de 1978, iniciou o Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas, na Mesma Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Em setembro de 1979, foi contratado por "Sementes Cargill Ltda.", onde vem ocupando o cargo de melhorista assistente, trabalhando com as culturas de milho e girassol.

ACÚMULO DE PROTEÍNA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO ENDOSPERMA EM PROGÊNIES
S₂ DE MILHO NORMAL (*Zea mays*, L.)

Afonso Celso Monteiro

Geráldo Antonio Tosello
Orientador

RESUMO

O presente trabalho procurou estudar o acúmulo de proteína, durante o desenvolvimento do endosperma de oito progênies S₂ de milho normal, quando submetidas a três diferentes densidades de plantio, quais sejam: 100.000, 75.000 e 50.000 plantas/ha.

Os tipos de endosperma testados foram representados por sementes do Composto ESALQ-VF-1 (grupo Flint) e ESALQ-VD-2 (grupo Dentado), ambos de base genética ampla.

Numa tentativa de se extrapolar as possíveis informações sobre o acúmulo proteico do milho, dentro de cada tipo de material, isolou-se, previamente, progênies de alto e baixo teores do aminoácido triptofano, no grão maduro de milho.

Paralelamente a esta análise proteica, procedeu-se também ao estudo de como a matéria seca é acumulada nos grãos de milho, durante o ci-

clo da planta. Para tanto, obteve-se dados inerentes à peso de 20 grãos, peso de 20 endospermas, peso de 20 embriões e porcentagem de embrião no grão.

Verificou-se, também, neste trabalho, como a síntese de triptofano interfere no acúmulo de matéria seca e proteína, durante o desenvolvimento do endosperma.

Em termos de densidade de plantio, constatou-se que o "stand" de 100.000 plantas/ha, em virtude de proporcionar às plantas maior disponibilidade de nutrientes (uma vez que o tipo de adubação foi igual para todas as densidades de plantio), mostrou-se superior em 8%, para peso de 20 grãos, sobre a média das densidades de 75.000 e 50.000 plantas/ha.

Nestes três tipos de densidade, observou-se, também, a superioridade do material dentado sobre o flint, uma vez que o Composto ESALQ-VD-2 mostrou-se superior em 26% ao Composto ESALQ-VF-1, para peso de 20 grãos (média das três densidades).

Relacionando-se teor de triptofano, no grão maduro, e acúmulo de matéria seca, ressalta-se que no grupo flint, há uma correlação negativa entre peso de grãos e teor do aminoácido (no grão maduro), onde progênies pobres em triptofano acusaram uma superioridade, sobre as progênies de alto teor, da ordem de 5%. Para o grupo dentado, observou-se o inverso, onde progênies de alto triptofano mostraram-se superiores às suas análogas de baixo teor em 1%.

Para o carácter porcentagem de embrião no grão, demonstrou-se que sob a densidade populacional de 100.000 plantas/ha, há um menor teor de embrião (22,730%), uma vez que para as densidades de 50.000 e 75.000 plantas/

ha observou-se os valores de 26,830% e 24,860%, respectivamente, ressaltando-se, aqui, a idéia de que materiais portadores de maior percentual de embrião no grão, tornam-se mais leves, pelo fato de possuírem maiores teores de óleo.

Em termos de acúmulo proteico, o "stand" de 50.000 plantas/ha mostrou uma superioridade de 1% sobre os demais, sendo que o grupo flint apresentou uma maior taxa de síntese proteica em relação ao grupo dentado (da ordem de 1,4%). No grupo flint, as progênies de baixo triptofano (grão maduro) mostraram uma superioridade sobre suas análogas de alto teor da ordem de 1,2%, enquanto que as progênies dentadas de alto teor em triptofano apresentaram-se 3,2% superiores às de baixo teor, realçando, assim, o fato que o milho dentado pode conciliar produção de grãos com qualidade de proteína.

A época de máxima síntese proteica, para os dois grupos de milho em estudo, foi a de 14 DAP (dias após a polinização), onde obteve-se o valor médio de 35,40% contra o valor de 19,43% referente a 49 DAP, ressaltando-se, assim, o valor nutricional do milho verde.

Para estas mesmas épocas, de 14 e 49 DAP, o grupo flint apresentou os seguintes valores, respectivamente: 35,80% e 20,87%, enquanto que o grupo dentado apontou o valor de 35,00% (14 DAP) e 18,00% (49 DAP).

Em termos de qualidade de proteína (porcentagem de triptofano na proteína total), notou-se que o material flint acumulou menores teores de aminoácido (2,13%) do que o grupo dentado (2,18%), nas três densidades de plantio.

A época de máxima síntese de triptofano, para os dois grupos de milho estudados, foi a de 21 DAP, com o valor médio de 4,28%, sendo que, a partir deste ponto, seguiu-se uma queda acentuada de síntese até atingir a maturação fisiológica.

Com isto, explica-se que a razão da baixa concentração de triptofano na proteína total do milho se deve ao fato de que as quedas de síntese do aminoácido durante o desenvolvimento do endosperma do milho normal são bem maiores do que as quedas de síntese proteica durante o desenvolvimento deste tecido de reserva.

Os trabalhos de campo e de laboratório desenvolvidos no presente trabalho foram conduzidos nas dependências do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", na cidade de Piracicaba, São Paulo, Brasil.

EVALUATION OF PROTEIN SYNTHESIS DURING THE ENDOSPERM DEVELOPMENT
IN S₂ CORN PROGENIES

Afonso Celso Monteiro

Geraldo Antonio Tosello

Adviser

SUMMARY

The main purpose of this discussion was to evaluate what happens to the protein synthesis during the development of two types of maize endosperm, under three different population stands, which were: 100,000, 75,000 and 50,000 plants per hectare.

So, the flint endosperm was obtained upon the ESALQ-VF-1 composite while the dent endosperm was represented by the ESALQ-VD-2 composite, both having a high genetic basis.

Within each material, the difference among the inbreds tested was the tryptophan content. So, the inbred lines belonging to the flint composite and to the dent one, had high and low content of this aminoacid in the mature grain.

Besides the protein synthesis study, this work dealt, too, with accumulation of dry matter in the grain during its ripening, using

data from 20 kernells weight, 20 endosperm weight, 20 embryos weight and embryo percentage in the grain.

By the other hand, we tried to understand how does the tryptophan synthesis act up on the protein and dry matter content during the ripening of the grain in the normal corn type.

It was observed that the stand with 100,000 plants/ha was 8% superior than the other two, when it was studied 20 kernells weight.

The dent composite was always superior to the flint one, in 20 kernells weight, whatever was the stand tested. So the ESALQ-VD-2 composite was 26% superior in comparison to the ESALQ-VF-1.

The study of tryptophan content (in the mature grain) related to the dry matter accumulation, showed us that in the flint group, the progenies with less tryptophan content were 5% superior to the high content ones. By the other hand, in the dent group, the rich progenies in tryptophan were only 1% superior to the poor ones.

Embryo content in the grain varied too, in accordance with the population stand, once the stand with 100,000 plants/ha had the lowest embryo percentage 22.73% while the stand with 50,000 plants/ha had 26.83% and the stand with 75,000 plants/ha appointed a value of 24.86% showing, this fact, that grains that have big embryos have lower grain weights because of the oil content.

Nevertheless, the population stand of 50,000 plants/ha had a superiority of 1% over the other ones, when it was studied the protein synthesis, and, now, the flint composite was 1.4% superior than the dent one.

Within the flint group, progenies with low tryptophan content had a superiority of 1.2% over their counterpart with high content, while, in the dent group, the high content inbreds were 3.2% superior than their analogous with low content (in the mature grain).

The age of 14 DAP (days after pollination) was the point where it was measured the highest protein content (35.40%) while at 49 DAP it was detected the lowest protein content (19.43%) for both kind of endosperm tested.

Although the flint endosperm accumulates much more protein during its development than the dent one, it was found that the dent endosperm has a better protein quality, once it showed more tryptophan in the total protein (2.18%) than the flint one (2.13%). Now, the best age of tryptophan synthesis is 21 DAP where it was detected the value of 4.28% for both endosperm types; from this age until the mature stage it was observed a strong decrease in the tryptophan content.

This work was carried out at Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, Brazil.

1. INTRODUÇÃO

Do ponto de vista nutricional, o milho é um cereal pobre para ser usado como fonte de proteína de alta qualidade, uma vez que a fração prolamina (representada pela zeína) constitui cerca de 55% da proteína total solúvel no endosperma. Pelo fato desta proteína ser pobre em lisina, a escolha de um material capaz de sintetizar baixos teores desta fração proteica, seria de enorme vantagem, uma vez que outras frações proteicas mais ricas em lisina poderiam ser incrementadas, resultando, assim, num milho de maior valor nutritivo, sem perda no rendimento de grãos. A identificação do valor nutricional do mutante opaco-2 feita por MERTZ *et alii* (1964), veio em parte solucionar o problema da qualidade da proteína do milho, uma vez que este mutante é capaz de aumentar em mais de 60% o teor de lisina, um aminoácido considerado essencial para os monogástricos. Paralelamente, verificou-se que opondo-se a esta qualidade proteica, existia uma série de fatores negativos depreciando o milho opaco, fatores estes que se tornaram uma barreira quase que intransponível para a aceitação desse milho, sendo a baixa densidade do grão, a menor compactação do endosperma e um embrião maior, os fatores primordiais, uma vez que o rendimento

em peso ficava afetado em mais de 15%.

Posteriormente, alguns pesquisadores iniciaram uma série de trabalhos tentando encontrar a resposta para explicar que fatores negativos estariam implicados no milho opaco, promovendo a redução no peso do grão. Um dos primeiros dados obtidos relacionava-se com a presença de corpúsculos de proteínas (DUVICK, 1961; WOLF *et alii*, 1967 e 1969), os quais preconizaram serem tais corpúsculos o centro de deposição da zeína que por sua vez, no opaco-2, estava ausente ou aparecia em quantidades bastante reduzidas no endosperma. A redução na síntese de zeína implicava, também, na redução de conteúdo proteico. Paralelamente a este fato, observou-se que o opaco-2 estava associado com um aumento significativo para tamanho do germe e, sendo altamente rico em óleo, este fato estaria alterando o peso do grão (WATSON, 1966; RUSCHEL, 1972). Uma redução na síntese de amido também tem sido relatada por alguns pesquisadores como estando presente no milho opaco, resultando em grãos menos pesados (WATSON e YAHL, 1967; TOSSELLO, 1974).

Tentativas para solucionar o problema do opaco-2 já são conhecidas e, talvez a mais promissora seja aquela empregando genes modificadores. Na presença destes genes, o endosperma tem se mostrado com regiões vitrificadas semelhantes ao normal; porém, o conteúdo em lisina é mais elevado. Tal fato, vem contribuir para um aumento no peso total do grão (PAEZ *et alii*, 1969; RIBERIAL, 1973; ROBUTTI *et alii*, 1974).

Por outro lado, uma pesquisa conduzida no sentido de se procurar dentro do milho normal uma combinação gênica que ofereça condições para se conseguir um milho de melhor qualidade proteica, torna-se de uma

necessidade indiscutível. Durante a evolução destas pesquisas, ênfase deve ser dada para o fato de se manter as características físico-químicas do endosperma.

O presente trabalho se propoe a estudar as seguintes características:

1) Estimar quantitativamente o acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento da semente de milho normal, pela avaliação dos caracteres para peso de grãos, peso do endosperma, peso do embrião e porcentagem do embrião.

2) Avaliar quantitativamente o acúmulo de proteína total durante o desenvolvimento do endosperma da semente do milho.

3) Avaliar qualitativamente as progênies empregadas pela medida do teor de triptofano na proteína, no endosperma em desenvolvimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Embora as variedades de milho existentes nos trópicos difiram bastante entre si, todas elas convergem para um ponto comum, ou seja, apresentam seus grãos com baixa qualidade proteica. É sabido, também, que a proteína constitui em média, cerca de 10% de todo o grão de milho e que, nos milhos comuns, as proteínas são deficientes em aminoácidos essenciais, tais como lisina e triptofano, particularmente no endosperma que representa de 80 a 82% da semente. Como consequência, o milho comum apresenta, relativamente, um baixo valor nutritivo (OSBORNE e CLAPP, 1908; SPRAGUE *et alii*, 1941)^{1/}.

Estudos sistemáticos sobre as proteínas existentes em sementes iniciaram-se no ano de 1891 e perduraram até o ano de 1920 (OSBORNE, 1924)^{2/}. Ressalta-se, aqui que esta classificação feita com base na solubilidade das proteínas é ainda usada, desde que nenhum critério veio, até o momento, substituí-la com a mesma eficiência. Assim sendo, as proteínas são

^{1/} Citados por TOSELLO (1974)

^{2/} Citado por NELSON (1967a)

classificadas como albuminas (solúveis em água), globulinas (insolúveis em água, mas solúveis em soluções salinas), prolaminas (solúveis em alcoois fortes) e glutelinas (solúveis em soluções alcalinas diluídas e solúveis, também, em soluções alcoólicas ou salinas). Um outro método de se extrair as proteínas dos cereais, consiste no uso de um meio alcalino contendo cobre, íons sulfato e sulfito (MERTZ e BRESSANI, 1957). Mais recentemente, LANDRY e MOREAUX (1970) propuseram um novo esquema de fracionamento proteico que tem sido usado extensivamente. É somente em sementes de gramíneas que se encontram altos níveis de prolaminas e glutelinas; em sementes de outras espécies é a fração globulina que atinge níveis expressivos (SMITH *et alii*, 1959).

Os constituintes da proteína do grão dos cereais têm sido investigados intensivamente e, MOSSÉ (1968)^{3/} afirmou que as prolaminas constituem-se na maior parte da proteína existente na semente de milho, representando cerca de 50% do total. As frações prolaminas de todos os cereais são relativamente ricas em prolina e glutamina, mas, em contrapartida, apresentam baixos teores de lisina. Em investigações feitas nos laboratórios de Osborne, detectou-se pequenas quantidades dos aminoácidos lisina e triptofano quando se utilizou a zeína (fração prolamina da proteína do milho) para estudos de qualidade. Assim sendo, demonstrou-se que ratos de todas as idades tornavam-se fracos e, conseqüentemente, morriam, quando submetidos a uma dieta onde zeína fosse a única fonte proteica existente.

MEHTA (1972), estudando o fracionamento das proteínas no endosperma de milho opaco-2, mostrou que a fração albumina diminui com o au-

^{3/} Citado por NELSON (1969).

mento correspondente da fração glutelina. Esse autor sugere, também, que a fração glutelina tende a crescer no endosperma opaco-2 a partir 10º dia após a polinização (DAP), sendo que, já aos 31 dias, começa a decrescer, atingindo um nível mínimo aos 38 DAP. MISRA *et alii* (1974) afirmaram que as maiores concentrações de albuminas e globulinas ocorrem aos 14 DAP, havendo um decréscimo destas frações do 21º ao 49º dia após a polinização. Tentando estudar variações na textura do endosperma, através do uso de genes modificadores em material de milho opaco, DENIČ *et alii* (1980) revelam um aumento em proteína, ácido glutâmico, leucina, prolina e alanina em contraoposição a um decréscimo em lisina, histidina, arginina e ácido aspártico. No entanto, verificou-se que em endospermas de milho normal, há um maior acúmulo da fração zeína, que é pobre em lisina e triptofano.

Em termos de acúmulo de nitrogênio durante o desenvolvimento do grão de milho, ressalta-se a pesquisa de SOAVE *et alii* (1975), que afirmam que o nitrogênio solúvel em solução de salina (portador, portanto, de albumina e globulina) e o nitrogênio não proteico aumentam lentamente, nas amostras de milho normal, nos estágios inicial e intermediário do desenvolvimento do grão e decrescem nos estágios finais, concordando, assim, com SEMIČ e DENIČ (1975), que afirmam que a diferença no conteúdo do nitrogênio nos endospermas normal e mutante só é aparente após 22 DAP.

Trabalhando também com nitrogênio como integrante da proteína total, DOMASHNEV *et alii* (1979) estimou o nitrogênio em sementes de dois híbridos de milho normal e seus análogos opaco-2 que são ricos em triptofano, fazendo coletas a cada cinco dias desde 15 dias após polinização (DAP) até 50 DAP. Embora não tenha sido detectada nenhuma diferença quanto ao

teor de nitrogênio total entre os dois materiais, afirma-se que houve maior acúmulo aos 15 DAP, notando-se um decréscimo neste acúmulo desde então. Contrastando com os teores de nitrogênio total, DOMASHNEV *et alii* (1979) apresentaram novos dados, onde em material opaco-2 o conteúdo de nitrogênio não proteico foi de 35 a 81% maior do que na forma normal, muito embora o gene opaco-2 tenha tido pouco ou nenhum efeito sobre a síntese proteica, durante o desenvolvimento do grão.

Em 1972, MEHTA observou que o acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do grão de milho é muito rápido a partir dos 24 DAP; contudo, após este estágio, há uma paralização da síntese no endosperma e, apenas o embrião torna-se sede da síntese, porém, a uma velocidade bem menor. MISRA *et alii* (1974), estudando também o acúmulo de proteína total, em vários tipos de endosperma, afirmam que altos níveis de proteína foram observados aos 14 DAP. Houve, porém, uma notável redução destes valores durante os sete dias subsequentes, presumivelmente devido a um aumento no nível de síntese de amido. Do 21º dia até o 49º dia, o nível de proteína permaneceu constante, tanto no endosperma normal como no mutante opaco-2. No endosperma brittle-2 o nível foi de 22% aos 14 DAP e permaneceu maior do que aquele encontrado no endosperma normal ou opaco, devido, talvez, à deficiência na biossíntese de amido causada por este gene mutante.

Em contrapartida, os estudos de GUPTA *et alii* (1978) em termos de milho normal sugerem que há um máximo de acúmulo em termos de proteína, lisina e triptofano entre 25 e 35 DAP, sendo que destas épocas até a maturidade plena, ocorre uma retração no acúmulo, principalmente de proteína. Já, RYADCHIKOV *et alii* (1979) afirmam que a síntese de proteína na

versão opaca de uma linhagem de uso corrente na Rússia, é mais lenta do que a sua análoga normal, especialmente nos primeiros estágios de enchimento do grão, contudo, ao final do ciclo vegetativo, o endosperma opaco-2 possui maior concentração de proteínas solúveis em sal e maior teor de aminoácidos livres que a linhagem normal.

Em termos de tamanho de população ideal para um acúmulo efetivo de proteína no endosperma de milho, ressalta-se o trabalho de SINGH *et alii* (1979) onde estudou-se este efeito em três densidades de plantio (25000, 50000 e 100000 plantas por hectare), notando-se, assim, que para maiores ganhos de proteína e porcentagem de triptofano na proteína, os níveis médio e baixo de densidade são os mais indicados, em contraposição a um maior rendimento de grãos, onde o "stand" ideal foi o de 100.000 plantas por unidade de área.

Tentando relacionar quantidade de proteína no endosperma com o fator camada múltipla de aleurona, que é condicionado por um gene dominante, WOLF *et alii* (1972) demonstram que grãos possuindo esta característica acumulam mais proteína e lisina durante o desenvolvimento do endosperma. No entanto, NELSON e CHANG (1974) afirmam que o efeito de camadas extras de aleurona pouco influem no conteúdo total de proteína no endosperma do milho.

Pensando-se em melhoramento genético para aumento na taxa de síntese proteica, após cinco ciclos de seleção recorrente, atinge-se um platô acima do qual a produção de proteína permanece imutável (ALEXANDER *et alii*, 1979).

No campo da genética molecular, SOLARI (1978) verificou que

o sistema genético que controla o conteúdo de proteína no grão tem um efeito pleiotrópico sobre o conteúdo de proteína no embrião e endosperma e também, na proporção do embrião, endosperma e pericarpo por grão e o controle é exercido pelo genótipo materno. Assim sendo, grãos com alto teor de proteína possuem maior proporção de embrião e pericarpo por endosperma.

Em 1922, SHOWALTER e CARR afirmaram que a fração zeína está ligada ao conteúdo de nitrogênio total no grão de milho e que um aumento nesta fração corresponde a um decréscimo na fração glutelina.

O acúmulo de zeína durante o desenvolvimento do endosperma foi estudado por ZELNY (1935), que demonstrou a quase ausência desta proteína em grãos de milho imaturos, afirmando em contrapartida, que sua síntese aumenta rapidamente quando o grão se aproxima da maturidade.

DALBY (1966)^{4/} afirma que em endospermas normais, a fração zeína é aumentada a partir dos 31 DAP enquanto que no milho opaco-2 ela fica constante após aos 31 DAP. Entretanto, MURPHY e DALBY (1971) supõem que o mutante opaco-2 diminui a síntese de zeína e aumenta a de glutelina, uma vez que a composição de zeína isolada no endosperma opaco-2, aos 15 DAP, difere da correspondente fração normal, no mesmo estágio. O modo de acúmulo da zeína no endosperma opaco-2 sugere que o gene *so* é ativo nas primeiras duas ou três semanas após a polinização. DALBY e DAVIES (1972) entendem que o acúmulo de zeína é sempre maior no milho normal do que no mutante opaco-2; contudo, a síntese de zeína no mutante ocorre em idades precoces embora com intensidade menor do que no normal. Afirmando, também, que a cur

^{4/} Citado por NELSON (1967)

va de síntese de zeína do opaco-2 aos 17-18 DAP pode ser sobreposta à curva de síntese do milho normal aos 15 DAP. Após estes períodos, as curvas tornam-se diferentes entre si. No milho opaco-2, o acúmulo de zeína só é afetado pelo gene mutante antes dos 17-18 DAP; depois disto, a síntese é semelhante à do milho normal. Confirmando o trabalho anterior, ainda em 1972, CORRENTI e SOLARI confirmam que no material opaco-2 a síntese de zeína é interrompida nos primeiros estágios de desenvolvimento do grão, enquanto que no tipo normal a síntese continua até 48 DAP, concordando, assim, com trabalho de INGLE *et alii* (1965b). MISRA *et alii* (1974) sugerem que a produção de zeína em milho normal é evidente aos 14 DAP e atinge um máximo valor aos 42 DAP; o nível de zeína atingido em endospermas normais aos 14 DAP foi semelhante aos níveis dos mutantes brittle-2 e opaco-2 aos 18 DAP e 21 DAP, respectivamente. A produção total de zeína nos materiais mutantes foi menor do que 50% da produção em material normal. Em contrapartida, TSAI e DALBY (1974) afirmam que o acúmulo de zeína começa aproximadamente a partir do 16º dia após a polinização e sua síntese está praticamente terminada (50%) aos 28 DAP. O trabalho de SOAVE *et alii* (1975) concorda com o já exposto, no tocante à época do início da síntese de zeína (aos 14 DAP), sugerindo que há um crescimento linear desta síntese até aos 35 DAP, sendo que em material mutante, esta produção cai expressivamente. Em milho opaco, JONES *et alii* (1977) notaram que a zeína é perfeitamente detectável aos 16 DAP; em milho normal esta fração proteica é acumulada no endosperma um pouco depois deste período. O conteúdo em zeína aumenta a partir dos 40 DAP em endosperma normal, enquanto que o mutante opaco-2 acumula pouca zeína aos 20 DAP e completa sua síntese aos 30 DAP. Neste mesmo ano, SOAVE *et alii* explicam que a síntese de todos os componentes moleculares da zeína são reduzidos no material mutante em função do efeito

bloqueador do gene $o_2^o_2$, embora sua ação seja mais enérgica sobre os componentes de maior peso molecular, concordando assim, com dados de JONES *et alii* (1976).

Os trabalhos de TSAI *et alii* (1978b) e TSAI (1979) servem para mais uma vez realçar as provas sobre a síntese de zeína, uma vez que sugerem ser aos 12 DAP o ponto de início da síntese de zeína, no tipo normal de milho, onde esta fração proteica cresce linearmente até o fim do desenvolvimento. Enquanto isso, o tipo mutante interrompe esta síntese aos 28-35 DAP. No entanto, não houve diferenças significativas no conteúdo de albumina, globulina e glutelina entre o milho normal e opaco-2.

PYL'NEVA *et alii*, em 1978, demonstram que tanto em milho normal, quanto no de altos teores de lisina, sempre predomina a fração solúvel em sal, embora no milho opaco a razão zeína/globulina só é de 2 a 5 vezes inferior à do normal e pouco varia durante o desenvolvimento do grão; e reafirmam também o bloqueio da síntese das moléculas de zeína (de baixa mobilidade) em material opaco.

Em termos de uso de eletroforese, ressalta-se, aqui, a pesquisa de SODEK e WILSON (1971) onde demonstram a heterogeneidade da fração zeína, pelo uso de gel de poliacrilamida em material normal. Confirmando esta apresentação, LEE *et alii* (1976) realçam a existência de seis bandas de zeína em linhagens normais de milho, sendo que dois tipos de banda (Z_1 e Z_2) são predominantes. Em contraposição, em material opaco, o tipo Z_1 é inexistente.

A fração zeína da proteína dos grãos de milho é extremamente deficiente em lisina e triptofano e, a maior concentração destes amino-

ácidos no mutante opaco-2 é um resultado direto da repressão da síntese de zeína (MERTZ *et alii*, 1965).

Tentando elucidar como ocorreria esta repressão, INGLE e HAGEMAN (1965a) observaram um decréscimo no conteúdo de RNA no endosperma de milho normal durante o desenvolvimento dos grãos, mas não notaram o seu desaparecimento completo. O início do decréscimo de RNA, segundo estes autores deu-se a partir dos 28 DAP.

De posse destes dados, relacionou-se a repressão de síntese de zeína com a atividade da enzima ribonuclease, uma vez que esta vê-se relacionada com a degradação do RNA durante o desenvolvimento do grão. O trabalho de VIOTTI *et alii* (1975) também se refere à concentração de RNA durante o desenvolvimento de endospermas normal e opaco-2 e, reafirma as hipóteses de INGLE e HAGEMAN (1965a), uma vez que sugerem, que embora diferindo nos dois tipos de milho, em conteúdo, o RNA chega à máxima de síntese entre 21 e 28 DAP, nas duas versões. A mais gritante diferença entre o endosperma normal e o opaco-2 ocorre nos estágios mais tardios da maturação, quando, a ausência de polissomos nos corpos de proteína do mutante concorre para a ausência de síntese de prolamina nestes estágios, confirmando assim, dados de DUVICK (1961); WOLF *et alii* (1967 e 1969) e SOAVE *et ali*i (1975).

Estudos citológicos realizados por RANDOLPH (1936) que mostram a mitose no endosperma de milho aos 28 DAP, suportam, mais uma vez, todas as hipóteses lançadas sobre o acúmulo de RNA durante o desenvolvimento do endosperma. Assim sendo, DALBY e DAVIES (1967) afirmam que no endosperma opaco-2 a atividade da ribonuclease se inicia mais cedo do que no milho

normal e que mesmo após um longo período de crescimento exponencial, esta atividade é bem maior no endosperma mutante do que no normal. WILSON e ALEXANDER (1967) sugerem que a atividade desta enzima é de 2 a 4 vezes maior no milho opaco-2 do que no milho normal. DENICÉ (1969) isolou o t RNA do embrião e endosperma de sementes normais e do mutante opaco-2 e, ao comparar seu conteúdo, notou que o t RNA do mutante contém 19% mais lisina do que seu análogo normal.

MEHTA (1972) também estudou o possível mecanismo de inibição da síntese de zeína observando as variações nos ácidos nucleicos e nas proteínas do endosperma e embrião de milho opaco-2, em diferentes estágios de maturação. Examinou, também, as variações existentes nas atividades da ribonuclease presente no endosperma de milho normal e opaco-2 com o objetivo de se saber algo sobre a degradação do RNA durante o desenvolvimento do grão. Mostrou-se que tanto o RNA quanto o DNA desaparecem completamente do endosperma durante os últimos estágios de maturação. Pouca quantidade de zeína é formada antes destes estágios.

Ainda MEHTA (1972) afirma que o RNA presente no endosperma de grãos imaturos é maior aos 17 DAP e desaparece completamente aos 31 DAP. O DNA também segue a mesma ascensão e queda do RNA. O mesmo autor afirma que o desaparecimento do RNA do endosperma opaco-2 coincide com o aumento da atividade da ribonuclease e, este fato ocorre a partir dos 24-31 DAP.

Em termos de qualidade de proteína, MERTZ *et alii* (1965) trabalhando com vários mutantes de milho, numa tentativa de se obter um balanço de aminoácidos mais favorável à alimentação de não ruminantes, descobriram que os mutantes opaco-2 e floury-2 causam mudanças apreciáveis no con-

teúdo de aminoácidos no endosperma e levam a maiores concentrações de lisina e triptofano. A prova desta afirmação veio logo com um outro trabalho de MERTZ *et alii* (1965b), onde ratos nutridos com milho opaco-2 aumentaram de peso cerca de três vezes mais rapidamente do que quanto submetidos à dieta de milho normal.

Confirmando o já exposto, SYSOEV e IGNATOVA, em 1974, apresentam resultados onde demonstram que linhagens de milho opaco-2 possuem um sistema mais ativo para a utilização de precursores do aminoácido lisina do que linhagens normais, confirmando ser o ácido diaminopimelico o precursor da lisina.

Em 1967b, NELSON estudando a concentração de lisina na proteína total de milho comum e opaco afirmou que neste último o aminoácido em estudo estava em concentrações bem maiores (quase que o dobro). PAEZ *et alii* (1969) observaram um fenótipo modificado no milho opaco-2 chamado por ele de 1/2 opaco - 1/2 translúcido e notou que este novo fenótipo possuía a mesma concentração de lisina no endosperma que o mutante opaco-2, abrindo com isto um novo horizonte no melhoramento da qualidade proteica no milho.

Em termos de acúmulo de lisina, triptofano e zeína durante a fase de germinação do milho, cuja duração média é de cinco dias, TSAI *et alii* (1975) verificaram um aumento nos teores destes aminoácidos e um decréscimo no acúmulo daquela fração proteica. Comparando material opaco-2 e normal, PYL'NEA (1974) sugere que o mutante possui um consumo maior de reservas durante a germinação e que nos primeiros estádios de desenvolvimento, as plântulas mutantes possuem uma maior proporção RNA/DNA e, tam-

bém, um maior conteúdo de lisina, proteína e matéria seca do que as plântulas normais.

Já, analisando o acúmulo de aminoácidos durante o desenvolvimento do grão, ZINK (1977), usando material normal, opaco-2 e de alta lisina, detectou diferenças significativas no acúmulo de lisina e triptofano no endosperma a partir de 24 DAP e dessa época até a maturação dos grãos estas diferenças tornaram-se mais destacadas entre os três tipos de material, fato este explicado pela redução da síntese de prolamina e aumento na síntese de glutelina no milho normal, concordando mais uma vez com dados de DUVICK (1961), WOLF *et alii* (1967 e 1969) e SOAVE *et alii* (1975).

Completando o trabalho de ZINK (1977), os autores DMITRIEVA e LUK'VANENKO, em 1979, sugeriram que até dez dias após a polinização, nenhuma diferença nos teores de lisina e triptofano foi notada entre material normal e de alta lisina, sendo que a superioridade deste último, torna-se aparente apenas aos 20 DAP e que a taxa de acúmulo de proteína e aminoácidos essenciais é máxima entre 20 e 30 DAP. A síntese de lisina cessa aos 40 DAP no milho normal, mas continua até os 50 DAP no de alta lisina.

Em 1980, BUKREVA e FILIPAS, também não encontraram grandes diferenças no acúmulo de lisina no grão imaturo de milho opaco e normal, embora o mutante tenha acumulado mais lisina na folha aos 30-40 DAP. Por outro lado, notou-se um maior acúmulo de matéria seca no grão e endosperma, no material opaco-2, aos 40-60 DAP.

Quanto a métodos de avaliação de lisina, cita-se o trabalho de CAVERNAGUE e AZEVEDO (1968), onde utiliza-se mutantes de *Aspergillum nidulans* deficientes para o fator lisina, obtidos por tratamento com luz

ultra-violeta.

Um outro método é o proposto por FROMBERG *et alii* (1971) que determinaram um método de extração usando butanol e, graças à forte correlação positiva de lisina e nitrogênio insolúvel detectado após o uso de butanol, pode-se, por este método, fazer-se seleção massal de linhagens com alto teor de lisina; contudo, em nosso meio, usa-se mais frequentemente o método colorimétrico idealizado por TSAY *et alii* (1972).

SUKALOVIĆ *et alii* (1979) também propõem um novo método de determinação de lisina, baseado na diluição isotópica e na especificidade do T RNA, realçando sua superioridade sobre o método padrão de cromatografia por troca iônica.

SPIES e CHAMBERS (1949) estimaram o teor de triptofano pelo método colorimétrico, usando p-dimetelaminobenzaldeído, embora BENEZE e SCHMID (1957) prefiram o uso de espectrofotometria; porém, a avaliação de triptofano contido em sementes geralmente é feita baseando-se no método colorimétrico de HERNANDEZ e BATES (1969). Mais recentemente, em 1976, PISANSKII e TSYGANOK idealizaram equações de regressão para determinação simultânea de lisina e triptofano contidos nos grãos de milho, a partir do conteúdo de nitrogênio de todas as frações proteicas, com exceção da zeína.

Em alimentos, esta avaliação foi estudada também por SLUMP e SCHREUDEE (1969) que descrevem um método cromatográfico para a determinação de triptofano, usando-se um analisador automático de aminoácidos.

3. MATERIAL

Para o desenvolvimento do presente trabalho foram empregadas oito progênies S_2 pertencentes a dois compostos de milho de ampla base genética. Quatro destas progênies pertencem ao composto ESALQ-VD-2 e as quatro restantes ao Composto ESALQ-VF-1, ambos com sementes de cor amarela e com endosperma normal, desenvolvidas no Instituto de Genética da ESALQ.

O composto ESALQ-VD-2 foi obtido pelo inter cruzamento de doze populações representativas de germoplasma do México, América Central e América do Sul.

O composto ESALQ-VF-1 foi sintetizado, também, pelo inter cruzamento de dezoito populações de milho pertencentes a material da América Central, Colômbia e Brasil.

A seguir, apresenta-se uma descrição das populações originais empregadas na obtenção destes compostos, baseando-se no relato de PATERNIANI (1968) e OSUNA (1971).

Constituição do "Composto ESALQ-VD-2"

- WP 2: Dentado amarelo - população proveniente de amostras de Tuxpeño amarelo, coletada no norte de Vera Cruz, México. Ver Gpo. 48, Ver 168 e SLP 15. É uma das melhores populações de Tuxpeño amarelo.
- WP 6: População que apresenta sementes brancas e semidentadas. É resultante dos cruzamentos Tuxpeño x Eto Blanco.
- WP 9: População que apresenta grãos semi-dentados brancos, compreende uma mistura de variedades da raça Tuxpeño cruzadas com Eto Blanco, meio dente.
- WP 10: População que apresenta sementes dentadas, amarelas, também é chamada de composto III Centro Americano. É resultante de uma mistura dos milhos duros amarelos (Cuba 40, Hawai 5) e de Tuxpeño amarelo.
- WP 27: Capitein - variedades de sementes brancas, dentadas da raça Tuxpeño, cultivadas em Vera Cruz, México.
- WP 29: Carmen - outra variedade da raça Tuxpeño, de sementes brancas, dentadas e cultivadas em Vera Cruz, México.
- WP 32: Mix. 1 - população da raça Tuxpeño, de sementes brancas, obtidas em Costa Rica.
- WP 37: Venezuela 3 - variedades de milho branco dentado, ob

tidas por seleção na Venezuela.

PIRAMEX:- É uma variedade representante da raça Tuxpeño amarelo, desenvolvida originalmente pelo Programa Agrícola Mexicano. Foi introduzida em Piracicaba, pelo Instituto de Genética em 1956 e a partir de 1962, tem sido melhorada por meio de seleção, entre e dentro de famílias de meios irmãos.

ASTECA: Variedade sintética formada com germoplasma da raça Tuxpeño amarela. Foi obtida pela Secção de Cereais do Instituto Agronômico de Campinas.

MAYA: Variedade sintética, formada com germoplasma de origem Mexicana de cor amarela e obtida pela Secção de Cereais do Instituto Agronômico de Campinas.

AMÉRICA CENTRAL: Variedade de milho dentado amarelo, derivado de germoplasma do México e América Central. Foi obtida pela combinação de 16 linhagens S_1 num programa de seleção recorrente para capacidade geral de combinação. O material compreendeu 6 linhagens de "Cuban Yellow Dent", 3 do Hawaí, 6 de Trinidad e 1 das Ilhas Virgens.

A população Dentado, assim obtida, foi multiplicada por três gerações de polinização livre, praticando-se a seguir um ciclo de seleção massal.

Constituição do "Composto ESALQ-VF-1"

- WP 1: População com sementes demi-dentadas de coloração amarela, obtida a partir da combinação de PD (MS) 6, Nariño 330 x Peru 330, amarillo Salvadoreño, sintético da Flórica e Eto Amarillo.
- WP 3: Cuprico-Compreende uma combinação de milhos amarelos semi-dentados, incluindo 5 amostras de germoplasma cubano e cinco provenientes de Porto Rico.
- WP 4: População de milho duro branco, resultante do cruzamento de Nariño 330 origem colombiana x Peru 330, obtidas no Programa de Melhoramento de Milho da Colômbia.
- WP 5: Cuba 11 J. - Trata-se de um representante típico de germoplasma duro laranja de Cuba.
- WP 7: Eto Blanco - Trata-se da conhecida variedade de milho duro branco, obtida na Colômbia, na estação experimental Túlio Ospina, por meio de cruzamentos múltiplos procedentes de outras regiões da América do Sul.
- WP 8: Cuba Grupo 1 - É outro representante típico do germoplasma duro laranja de Cuba, com boa capacidade de combinação com a raça tuxpeno.
- WP 11: Porto Rico Grupo 2 - Variedade de milho semi-dentado, amarelo coletada em Porto Rico.

WP 13: Composto amarelo do Caribe - composto formado no México a partir de milho semi-duros amarelos do Caribe e da América Central. É possível que inclua algum germoplasma de origem Tuxpeño.

WP 28: Diacol V 101 - Trata-se de uma variedade melhorada, de milho duro branco, obtida pelo Programa Agrícola da Colômbia em colaboração com a Fundação Rockefeller.

WP 30: Nariño 330 - Trata-se de uma amostra de milho duro branco, do Banco de Germoplasma da Colômbia, formado por 11 linhagens de grãos amarelos.

WP 33: Amarillo Salvadoreño - É um milho semi-dentado, obtido na República de El Salvador.

WP 34: Sintético da Flórida - Trata-se de milho semi-dentado amarelo obtido com milhos adaptados ao Estado da Flórida-USA.

WP 35: Eto amarillo - Trata-se de variedade de milho duro amarelo, melhorada na estação experimental de Túlio Ospina da Colômbia.

WP 36: Venezuela 1 - Semi-dentado amarelo, obtido por seleção na Venezuela.

WP 38: OD (MS) 6 - É uma variedade de milho, semi-dentado amarelo, que tem sido melhorada por seleção massal em Costa Rica.

PÉROLA PIRACICABA: Trata-se de uma variedade sintética branca, obtida pelo Programa de Melhoramento de Milho do Instituto de Genética da ESALQ, Piracicaba. Formada pela combinação de linhagens cristalinas brancas e amarelas, de alta produtividade e excelentes características agronômicas, sintetizando a partir de 3 linhagens Cateto, 3 linhagens Flint brancas da Colômbia e 1 linhagem semi-flint amarelo do México.

CATETO COMPOSTO: Obtido pela combinação de inúmeras amostras locais do conhecido milho cateto de grãos duros e de cor laranja intensa. Coletadas entre os agricultores dos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Bahia, Maranhão, Ceará e uma amostra do Paraguai.

Na formação dos compostos foi seguida a seguinte metodologia: milhos com grande diversidade genética e características apropriadas, foram inter cruzados, garantindo assim, uma participação efetiva dos mesmos. Os compostos assim obtidos foram submetidos à multiplicação por três gerações de polinização, praticando-se, a seguir, um ciclo de seleção para aumento de produtividade. A finalidade desses compostos é essencialmente a de melhor aproveitar a variabilidade genética existente nas diferentes raças e variedades (PATERNIANI, 1968).

As oito linhagens em estudo foram previamente analisadas para conteúdo em triptofano. Escolheu-se, então, dentro de cada composto, duas progênies com alto nível de triptofano e duas com baixo teor deste aminoácido. A identificação de cada progênie, em termos de triptofano, as-

sim como a sua identidade genética, são ilustradas no quadro a seguir:

Composto Flint		Composto Dentado	
Progênie	% Triptofano	Progênie	% Triptofano
3509-1 L1	0,02	4522-1 L5	0,03
3522-1 L2	0,02	4525-1 L6	0,03
4077-1 L3	0,08	4627-1 L7	0,11
4320-1 L4	0,08	4648-1 L8	0,11

A escolha destes dois grupos de progênies com alto e baixo teor em triptofano permite, em princípio, separar dois grupos de materiais contendo alta e baixa zeína na proteína, possibilitando a avaliação de como a fração estaria sendo sintetizada e armazenada dentro do grão.

4. MÉTODOS

4.1. Metodologia de Campo

Em outubro de 1973, procedeu-se à primeira geração de autofecundação, tanto no Composto ESALQ-VD-2 (material dentado) quanto no Composto ESALQ-VF-1 (material flint) e em outubro de 1974, obteve-se a segunda geração de endogamia, conseguindo-se, assim, as progênies S_2 analisadas neste trabalho.

Em janeiro de 1975, estas progênies S_2 foram analisadas quanto a seu teor em triptofano, usando-se, para tanto, o método colorimétrico idealizado por HERNANDEZ e BATES (1969). A seguir, dentro de cada composto, escolheu-se duas progênies de baixo teor deste aminoácido e duas progênies de alto teor totalizando-se, assim, as oito linhas endogâmicas já mencionadas anteriormente.

Assim sendo, pelo uso das sementes remanescentes de cada linhagem escolhida, procedeu-se ao plantio do material, em janeiro de 1976. Este atraso no plantio deveu-se a excesso de pluviosidade na época.

Todo material em estudo foi plantado sob o delineamento de blocos ao acaso, com duas repetições, observando-se três densidades de plantio, quais sejam:

D1 com 100.000 plantas por hectare

D2 com 75.000 plantas por hectare

D3 com 50.000 plantas por hectare.

Adotou-se, para cada parcela experimental, um comprimento de cinco metros, sendo que as covas distavam entre si, vinte centímetros, propiciando, assim, um "stand" de vinte e cinco plantas por parcela.

Para conseguir-se o efeito de densidades diferentes de plantio, preparou-se uma mistura de sementes, entre as oito linhagens, que atuou como bordadura; sendo assim, para cada parcela contendo uma das oito progênes, existiam duas parcelas contendo bordadura, e, variando-se o espaçamento entre os sulcos de plantio, obteve-se o efeito desejado. Portanto, para a densidade D3, a distância entre as bordaduras e uma determinada linhagem foi de 1,00 metro; para o efeito D2 o espaçamento foi de 0,75 m entre as linhas e, conseqüentemente, para D1, os sulcos distaram 0,50 m entre si.

As espigas para análise do endosperma foram colhidas a intervalos de sete dias após a polinização, sendo devidamente identificadas e armazenadas à baixa temperatura (-15°C). Coletou-se, assim, espigas representando sete épocas diferentes, a saber: 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias após a polinização (DAP), sendo que cada época foi representada por duas espigas.

4.2. Metodologia de Laboratório

De cada espiga colhida, obteve-se duas amostras de 20 grãos da região central, que foram imediatamente liofilizados. A razão deste procedimento especial, prendeu-se ao fato da necessidade de se manter inalteradas, com o passar do tempo, as substâncias presentes nos grãos amostrados.

A esta operação, seguiu-se a pesagem de cada amostra representativa de cada época de colheita.

Em seguida, os grãos de milho foram dissecados, obtendo-se a fração correspondente ao germen e a fração endosperma + pericarpo, que foi posteriormente moída.

A proteína total, medida na fração endosperma + pericarpo, foi avaliada pelo método micro KJEDAHN, onde o valor do nitrogênio total multiplicado pelo fator 6,25, nos dá o teor proteico existente na amostra testada.

Para desenvolvimento do presente trabalho, as características seguintes da semente foram estudadas:

- a) peso de grãos (gramas);
- b) peso de 20 endospermas + pericarpo (gramas) - que será designado, doravante, por peso de 20 endospermas;
- c) peso de 20 embriões (gramas) - obtido pela diferença entre peso de 20 grãos e peso de 20 endospermas + pericarpo;
- d) porcentagem de germen no grão;
- e) porcentagem de proteína no endosperma: como já menciona-

do, a partir da estimativa do nitrogênio total, obtida pelo método micro-KJEDAHN (AOAC, 1965), avaliou-se o percentual de proteína no endosperma, usando-se o fator 6,25. Previamente, as amostras sofreram extração do óleo, usando-se, para tanto, n-hexano, durante 14 horas, em extrator SOXHLET;

- f) porcentagem de triptofano: adotou-se o método colorimétrico desenvolvido por HERNANDEZ e BATES (1969). As amostras de 7 e 14 DAP não puderam ter seu teor de triptofano avaliado, pelo fato de não se ter conseguido a coloração adequada para a análise. Estes grãos, dado o seu reduzido tamanho, não foram dissecados; a esse fato, sugere-se a hipótese de que a não dissecação dos grãos, originou um tom amarelo escuro no material moído, causando, assim, um obstáculo para a avaliação colorimétrica;
- g) porcentagem de triptofano na proteína,

Para cada uma das características, adotou-se um número de duas repetições, denominadas, então, repetições de laboratório.

4.3. Estimativas dos Parâmetros Estatísticos

A análise da variância dos dados, anteriormente enumerados, obedeceu ao delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, segundo o esquema de parcelas sub sub divididas, cujos tratamentos foram os seguintes:

- Tratamento A = densidade de plantio (3)
- Tratamento B = linhagens (8)

- Tratamento C = épocas de colheita (7)

O número de amostras por sub sub parcela, K, é igual a 2.

O quadro do esquema da análise da variância é apresentado na Tabela 1.

TABELA 1 - Análise da variância obedecendo ao esquema de parcelas sub sub divididas, indicando a obtenção dos graus de liberdade existentes.

Fontes de Variação	G.L.
Blocos	(r-1)
Densidades (A)	(a-1)
Resíduo (a)	(r-1) (a-1)
Parcelas	ra-1
Linhagens (B)	b-1
Interação AxB	(a-1) (b-1)
Resíduo (b)	a(r-1) (b-1)
Sub parcelas	ra (b-1)
Épocas (C)	c-1
Interação AxC	(a-1) (c-1)
Interação BxC	(b-1) (c-1)
Interação AxBxC	(a-1) (b-1) (c-1)
Resíduo (c)	ab (r-1) (c-1)
Sub-sub-parcelas	rab (c-1)
Resíduo dentro	rabc (K-1)
Total	rabc (K-1)

onde: r = número de repetições;

a = número de densidades de plantio;

b = número de linhagens;

c = número de épocas de colheita.

As fontes de variação Blocos e Densidades de Plantio (A) foram testadas com resíduo "a" e as fontes de variação Linhagem (B) e a interação Densidade-Linhagem foram testadas com o resíduo "b", enquanto que Épocas (C), interação Densidade-Época, interação Linhagem-Época e a interação tripla Densidade-Linhagem-Época foram testadas com o resíduo "C".

De todos os dados analisados, obteve-se, também, seus respectivos coeficientes de variação, obedecendo à seguinte expressão:

$$\text{C.V.} = \frac{\sqrt{s^2}}{\bar{x}} \cdot 100$$

onde: C.V. = coeficiente de variação;

s^2 = variância dos dados analisados;

\bar{x} = estimativa da média geral dos dados.

Em seguida a esta análise inicial da variância, procedeu-se a vários desdobramentos de graus de liberdade, uma vez que a análise estatística dos dados apontou significância, pelo teste F, para o tratamento B e suas possíveis interações com os demais. As Tabelas 2, 3, 4 e 5 ilustram melhor o exposto.

TABELA 2 - Desdobramento dos graus de liberdade do tratamento B.

Fontes de Variação	G.L.
Linhagens (B)	7
Tipos	1
Teores	1
Interação (tipos x teores)	1
Linhagens/categoria	4
Resíduos (b)	21

TABELA 3 - Desdobramento dos graus de liberdade da interação AxB.

Fonte de Variação	G.L.
Interação AxB	14
Tipo x Densidade	2
Teor x Densidade	2
(Tipos x Teor) x Densidade	2
Linhagens/Categoria x Densidade	8
Resíduo (b)	21

TABELA 4 - Desdobramento dos graus de liberdade da interação BxC.

Fonte de Variação	G.L.
Interação BxC	28
Tipos x Épocas	4
Teores x Épocas	4
(Tipos x Teores) x Épocas	4
Linhagens/Categoria x Épocas	16
Resíduos (C)	216

Para todas as tabelas acima expostas, o termo tipos representa os compostos ESALQ-VF-1 e ESALQ-VD-2, enquanto que teores representam alto teor e baixo teor em triptofano.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o segundo semestre de 1979, procedeu-se à obtenção dos dados de laboratório que são o escopo do presente trabalho.

Assim sendo, de cada uma das 8 progênies em estudos pertencentes quatro a quatro ao Composto ESALQ-VF-1 e ao Composto ESALQ-VD-2, obteve-se as sementes S_2 das quais os seguintes dados foram analisados.

5.1. Peso de 20 Grãos

O resumo dos dados para peso de 20 grãos em três densidades de plantio e em sete épocas de colheita está apresentado na Tabela 5. A partir desses dados, obteve-se a análise inicial da variância que pode ser vista na Tabela 6. As médias para os tratamentos densidade de plantio (A), linhagens (B) e épocas de colheita (C) encontram-se na Tabela 7.

De posse destes dados iniciais, nota-se, neste trabalho, que diferentes densidades de plantio influíram diretamente no peso de 20 grãos, sendo que maiores populações por unidade de área acarretaram maior peso,

uma vez que na densidade de plantio D1 (100.000 plantas/ha) obteve-se o valor 5,172 g para peso de 20 grãos, contra 4,694 g quando testou-se a densidade D3 (50.000 plantas/ha) sendo que no "stand" intermediário, D2 (75.000 plantas/ha) o peso de 20 grãos foi de 4,912 g. Cabe aqui ressaltar, que o fato de a densidade D1 ter apresentado o maior peso de 20 grãos, prende-se ao fato de que nesta densidade, houve uma maior disponibilidade de nutrientes às plantas, uma vez que a adubação usada foi igual para os três tipos de densidade de plantio estudados.

Quanto aos tipos de materiais usados, nota-se, à primeira vista que o material flint (representado pelo Composto ESALQ-VF-1) possui um menor peso para 20 grãos (4,330 g), nas 3 densidades de plantio estudadas, em relação ao material dentado, aqui representado pelo Composto ESALQ-VD-2 onde obteve-se um peso médio de 5,515 g (Tabela 7). Como já sugerido, estes tipos de milho tiveram diferentes comportamentos quando submetidos às diferentes densidades de plantio, conforme se discute mais à frente.

Como era de se esperar, o acúmulo de matéria seca também foi influenciado pela época de colheita, onde a época de 49 DAP mostrou o maior peso de 20 grãos. Assim sendo, confundindo-se os dois tipos de material estudados, obteve-se a seguinte evolução para acúmulo de matéria seca: 0,536 g para 7 DAP; 0,832 g para 14 DAP; 2,455 g para 21 DAP; 4,553 g para 28 DAP; 6,721 g para 35 DAP; 8,594 g para 42 DAP e 10,803 g para 49 DAP, mostrando este fato, que, realmente, a cada época de colheita há um aumento progressivo para o enchimento do grão, o que vem a corroborar com os dados de TOSELLO (1974) onde notou-se, como esperado, um padrão de acúmulo linear entre os períodos de 21 e 42 DAP, para uma amostra de 30 grãos, sendo que aos 21 DAP obteve-se o peso de 1,74 g contra 6,38 g para 42 DAP.

No presente trabalho, dentro do grupo flint, observou-se o seguinte padrão para o acúmulo de matéria seca (Tabela 7: 0,511 g (7 DAP); 0,763 g (14 DAP); 2,211 g (21 DAP); 4,015 g (28 DAP); 5,691 g (35 DAP); 7,637 g (42 DAP) e 9,533 g (49 DAP). Para as progênes flint de baixo triptofano, obteve-se o seguinte padrão de acúmulo: 0,550 g (7 DAP); 0,809 g (14 DAP); 2,283 g (21 DAP); 4,074 g (28 DAP); 5,840 g (35 DAP); 8,105 g (42 DAP); 9,638 g (49 DAP), enquanto que as progênes de alto triptofano apresentaram-se do seguinte modo: 0,473 g (7 DAP); 0,717 g (14 DAP); 2,140 g (21 DAP); 3,956 g (28 DAP); 5,541 g (35 DAP); 7,169 g (42 DAP); 9,428 g (49 DAP), como se vê na Tabela 7.

Já para o grupo dentado, observou-se a seguinte evolução para acúmulo de matéria seca (Tabela 7): 0,562 g (7 DAP); 0,902 g (14 DAP); 2,700 g (21 DAP); 5,091 g (28 DAP); 7,751 g (35 DAP); 9,551 g (42 DAP) e 12,053 g (49 DAP). As progênes dentadas de baixo triptofano mostraram-se do seguinte modo: 0,552 g (7 DAP); 0,850 g (14 DAP); 2,652 g (21 DAP); 4,862 g (28 DAP); 7,666 g (35 DAP); 9,451 g (42 DAP) e 11,885 g (49 DAP), enquanto que suas análogas de alto teor apresentaram o seguinte padrão de acúmulo: 0,573 g (7 DAP); 0,954 g (14 DAP); 2,748 g (21 DAP); 5,321 g (28 DAP); 7,836 g (35 DAP); 9,651 g (42 DAP) e 12,222 g (49 DAP), como se verifica na Tabela 7. Contudo, o acúmulo de matéria seca não paralizou após a última coleta.

Com isto, demonstra-se que o Composto ESALQ-VD-2 é superior em peso de 20 grãos, ao Composto ESALQ-VF-1, a cada estágio de acúmulo de matéria seca, acarretando isso, sua superioridade ao fim do ciclo, como se observa na Figura 1. Ressalte-se que os dois materiais possuem ciclos semelhantes.

Observa-se também, que as progênes do grupo flint apresen-

tam um comportamento diferencial no tocante a acúmulo de matéria seca, quando examinadas juntamente com seu teor de triptofano, uma vez que as linhas de baixo teor do aminoácido acumularam maiores teores de matéria seca (4,442 g) em relação as de alto teor em triptofano, cujo peso de 20 grãos foi de 4,230 (Tabela 7). Esta diferença de acúmulo é notada a cada estágio de desenvolvimento do grão, onde as progênes pobres em triptofano possuem um maior gradiente de acúmulo do que suas análogas de alto teor, conforme se verifica na Figura 2.

Em contrapartida, para o grupo dentado, ocorre o inverso, pois, as progênes de baixo teor de aminoácido apontaram um menor peso para 20 grãos (5,493 g) do que suas análogas de alto teor, cujo peso foi de 5,538 g (Tabela 7). Como para o grupo flint, esta diferença de acúmulo é notada a cada estágio de desenvolvimento do grão, onde se nota uma resposta linear entre peso de 20 grãos e épocas de colheita, conforme se visualiza na Figura 3. Este tipo de resposta obtida para o grupo dentado é um ponto muito importante para a seleção de material com maior peso e melhor qualidade proteica, querendo-se enfatizar com isto, que por meio de seleção adequada, pode-se conciliar no milho normal, produção de grãos e melhor qualidade de proteína.

Estudando-se, agora, o comportamento das 8 progênes S_2 em relação às diferentes densidades de plantio, confirma-se a ação de diferentes "stands" sobre o enchimento dos grãos, notando-se que os dois tipos de materiais usados diferem entre si e a cada densidade de plantio testada, uma vez que na densidade D_1 , o grupo flint apresentou um peso de 4,658 g, enquanto que o material dentado obteve o valor de 5,685g. Na densidade D_2 as progênes duras pesaram 4,186 g e as dentadas 5,637 g e, já em D_3 as

progênes flint apontaram o peso de 4,162 g e as dentadas pesaram 5,225 g, demonstrando, portanto, que a maior disponibilidade de nutrientes fez com que a densidade D_1 se tornasse superior às demais em termos de acúmulo de matéria seca, observando-se, uma vez mais, a superioridade do grupo dentado sobre o grupo flint, como é mostrado na Tabela 7.

Ao se analisar os dados obtidos dentro de cada tipo de material estudado, observa-se, novamente, que para o grupo flint há uma correlação negativa entre teor de triptofano e acúmulo de matéria seca, enquanto que para o grupo dentado ocorre o inverso, para cada uma das densidades de plantio analisadas. Assim sendo, o material flint apresentou os seguintes valores: na densidade D_1 , progênes de baixo triptofano acusaram o peso de 4,698 g contra 4,618 g das de alto triptofano; na densidade D_2 , progênes de baixo triptofano pesaram 4,321 g enquanto que as de alto triptofano pesaram 4,052 g e, na densidade D_3 progênes de baixo triptofano pesaram 4,306 g contra 4,019 g das progênes de alto triptofano (Tabela 7).

Para o grupo dentado, os valores obtidos foram os seguintes: na densidade D_1 , progênes de baixo teor pesaram 5,485 g contra 5,885 g das de alto teor; em D_2 , progênes de baixo teor pesaram 5,507 g e as de alto teor pesaram 5,766 g e, em D_3 , progênes de baixo teor pesaram 4,964 g contra 5,487 g das de alto teor (Tabela 7).

Relacionando-se épocas de colheita com densidade de plantio, observou-se, como já esperado, que o período de 49 DAP foi a época de maior acúmulo de matéria seca, sendo que na densidade D_1 este acúmulo foi maior (11,020 g), enquanto que na D_3 apontou o menor peso de grãos, com o valor de 10,395 g. Na densidade intermediária, D_2 , o peso foi de 10,964 g,

mostrando isso, mais uma vez, que com o aumento do número de plantas por unidade de área, há um aumento significativo no peso dos grãos a cada época de desenvolvimento dos mesmos, causando, isto, a superioridade da densidade de D_1 em relação às demais.

Pelo que foi visto, sugere-se que o tipo de endosperma independe de outras características para se expressar, fazendo com que o material dentado seja sempre superior ao flint em quaisquer circunstâncias, o mesmo ocorrendo com o caracter teor de triptofano, embora, este aja diferentemente quando relacionado com diferentes tipos de endospermas, isto é, dentado ou flint.

5.2. Peso de 20 Endospermas

Os dados experimentais de peso de 20 endospermas estão reunidos na Tabela 9, sendo que a análise da variância encontra-se na Tabela 10. As médias para os tratamentos densidades de plantio (A), linhagens (B) e épocas de colheita (C) encontram-se na Tabela 11.

Pelos resultados da análise geral da variância, nota-se que, à guisa do item anterior, diferentes densidades de plantio agem diferentemente sobre o peso de 20 endospermas, sendo que a densidade de 100.000 plantas/ha (D_1) acusou o maior peso (5,586 g) e que em D_3 o valor obtido foi 4,824 g, que não diferiu muito do valor 5,090 observado para D_2 (Tabela 11).

Observa-se também, que o material dentado continua sendo superior ao flint, uma vez que a média das quatro progênies dentadas foi de 6,059 g contra as 4,449 g obtidas pelas progênies flint. Este comportamen

to diferencial entre dois tipos de material testados permaneceu inalterado quando testou-se as oito progênies sob diferentes densidades de plantio conforme se verifica a seguir, pelo uso da Tabela 12, que mostra os desdobramentos dos graus de liberdade das várias interações existentes.

Assim sendo, a densidade D_1 continua sendo superior às demais, onde o grupo flint apresentou um peso médio, para 20 endospermas, de 4,962 g contra 6,209 g do grupo dentado. Na densidade D_2 , o material duro apontou um valor de 4,242 g enquanto que as progênies dentadas mostraram um peso de 5,935 g. Já na densidade D_3 os valores obtidos para as progênies flint e dentadas foram 4,366 g e 5,280 g, respectivamente, demonstrando-se, assim, mais uma vez a superioridade do grupo dentado, nas três densidades de plantio testadas (Tabela 11).

A época de 49 DAP, também continua sendo a de maior peso de 20 endospermas, para os dois tipos de material, onde o grupo dentado é superior ao flint, uma vez que nesta época obteve-se o peso de 7,714 g para o material duro contra 9,747 g para as progênies dentadas. Ressalta-se, novamente, a ação do carácter teor de triptofano, uma vez que as progênies flint pobres neste aminoácido (no grão maduro) obtiveram o peso de 4,561 g enquanto que suas análogas de alto triptofano (no grão maduro) pesaram 4,336 g. No grupo dentado, ocorreu o inverso, onde as linhagens de baixo triptofano apontaram o peso de 5,815 g e as de alto triptofano pesaram 6,303 g (Tabela 11).

Verifica-se, ainda, que na densidade D_1 ocorre a maior defasagem de peso para 20 endospermas, no tocante à estágio de desenvolvimento do grão, uma vez que nesta densidade, aos 21 DAP o peso é de 1,646 g, con-

tra 9,095 g aos 49 DAP. Para D_2 os valores são 1,413 g e 8,158 g, e para D_3 os pesos são 1,546 g e 7,736 g, para 21 DAP e 49 DAP, respectivamente.

5.3. Peso de 20 Germens

Para este caracter, os dados obtidos encontram-se na Tabela 13 e, o resumo da análise geral da variância é visto na Tabela 14. As médias para o tratamento densidade de plantio (A), linhagens (B) e épocas de colheita (C), estão na Tabela 15.

Para o presente caso, nota-se que o efeito densidade de plantio possui uma ação inversa àquela exercida sobre peso de 20 grãos e peso de 20 endospermas, uma vez que em "stand" maior, o peso de 20 germens é menor. Assim sendo, em D_1 o peso obtido foi de 1,390 g enquanto que para D_2 e D_3 obteve-se os valores 1,433 g e 1,503 g, respectivamente (Tabela 15), sugerindo, este fato, que o tamanho do germen está relacionado com produtividade, uma vez que, para altas densidades de plantio, a produção por unidade de área é maior e o tamanho do germen é menor, havendo, portanto, menor teor em óleo no grão, o que leva a um aumento na produtividade, confirmando-se assim, os dados de WATSON (1966) e de RUSCHEL (1972).

Comparando-se os dois tipos de materiais testados, observa-se que o material flint continua sendo inferior ao dentado no tocante à acumulação de matéria seca, pois, o peso médio de 20 germens do material flint foi de 1,258 g contra 1,624 g do grupo dentado, independentemente de qualquer densidade de plantio.

Levando-se em conta os três "stands" estudados, observa-se

que o grupo flint continua inferior ao dentado, sendo que em D_1 o material flint pesou 1,253 g contra 1,525 g do grupo dentado. Na densidade D_2 , as linhas duras alcançaram o peso de 1,289 g contra 1,576 g das dentadas, e em D_3 as progênies flint pesaram 1,233 g enquanto que suas análogas dentadas pesaram 1,772 g (Tabela 15).

A época de colheita que originou o maior peso de 20 germens foi a de 49 DAP para os dois tipos de endospermas onde o grupo flint apontou o peso de 1,911 g enquanto que o dentado pesou 2,161 g para a mesma época. Para ilustrar melhor a evolução do peso de germen, cita-se que as linhas flint, aos 21 DAP pesaram 0,717 g em média contra 1,107 g das dentadas, conforme se vê na Tabela 15.

Dentro de cada material observa-se que para o grupo flint, as progênies de baixo triptofano obtiveram um menor peso de germen do que as de alto teor. Assim sendo, as primeiras pesaram 1,187 g e as últimas tiveram um peso de 1,330 g. Para o grupo dentado, nota-se uma correlação negativa entre teor de triptofano e peso de 20 germens, uma vez que as progênies de baixo teor acusaram um peso de 1,663 g contra 1,586 g das progênies de alto triptofano. Ressalta-se, aqui, que este comportamento é válido para as três densidades de plantio, da mesma forma como o ocorrido para peso de 20 endospermas.

Analisando-se os dados obtidos para este caracter, confirma-se que o peso de 20 germens sofre variações quando testado para uma determinada densidade de plantio associada a várias épocas de colheita. Assim sendo, observou-se que para a densidade D_1 , o peso de 20 germens aumentou com o desenvolvimento dos grãos (representados aqui, pelas épocas de co-

lheita), o mesmo ocorrendo para as densidades D_2 e D_3 , guardando, contudo, as mesmas proporções já relacionadas, onde a densidade D_1 causou o menor peso de germem, sendo esta, a única diferença observada em relação a peso de 20 grãos e peso de 20 endospermas.

5.4. Porcentagem de Germem no Grão

Na Tabela 17 encontram-se os dados experimentais referentes a este item; a sua análise estatística é apresentada na Tabela 18 e, as médias obtidas estão na Tabela 19.

Observando-se os dados, confirma-se a hipótese lançada para peso de 20 germens, onde densidades populacionais maiores condicionam um menor conteúdo de germem no grão, sendo que o material flint continua sendo inferior ao dentado. Assim sendo, a densidade D_1 apresentou, em termos médios, o valor 22,73% contra 24,86% e 26,83% para D_2 e D_3 (Tabela 19), respectivamente. Na média das três densidades de plantio (Tabela 19), o material flint obteve para porcentagem do germem no grão o valor de 23,95% enquanto que o grupo dentado apontou o valor de 25,66%. Analisando-se o comportamento de cada material em cada uma das densidades de plantio estudadas (Tabela 19), observou-se que o grupo flint na densidade D_1 obteve o valor de 22,34% contra a porcentagem de 23,13 para o material dentado. Em D_2 , as linhas duras apontaram o valor de 24,86% contra o valor de 24,85 das dentadas e, em D_3 , o material flint obteve 24,66% contra 28,98% do material dentado, para porcentagem de germem no grão.

Em termos de época de colheita, para os dois tipos de material em foco, a época de maior porcentagem de germem no grão (Tabela 19), foi a de 21 DAP (37,09%) e a de menor valor foi a de 49 DAP (18,99%). Dentro do grupo flint, a época de 21 DAP apontou o valor de 33,09% contra 20,11% para a data de 49 DAP. No grupo dentado, aos 21 DAP, obteve-se a porcentagem de 41,09 e aos 49 DAP o valor foi de 17,88%.

Analisando-se os valores obtidos para os 2 tipos de endospermas usados, percebe-se que aos 49 DAP o grupo dentado já possui menor teor de germem no grão (ao final do ciclo) acarretando isto, menor teor de óleo nos grãos dentados, o que explica a razão do maior peso de grãos no material dentado em relação ao flint, como já discutido anteriormente.

Observa-se, também, que as progênies flint de baixo teor em triptofano possuem menor teor de germem no grão (23,49%), enquanto que as de alto triptofano possuem mais germem (24,41%).

Já no material dentado, progênies de alto triptofano acusaram menor tamanho de germem (25,01%) enquanto que as de baixo triptofano apontaram maior teor de germem (26,30%) (Tabela 19).

Pelo exposto, constata-se uma influência significativa de cada densidade de plantio testada sobre cada tipo de material analisado, sendo que o menor "stand", representado por 50.000 plantas/ha, propiciou a maior porcentagem de germem no grão, a cada época de colheita estudada, obedecendo-se, contudo, aos padrões de acúmulo inerentes ao tipo e teor dos materiais estudados, à semelhança dos itens anteriores.

Finalizando esta discussão, ressalta-se que uma prova con-

tudente do acúmulo de matéria seca no grão de milho, durante o ciclo da planta, pode ser verificada na Tabela 19, onde se nota que o porcentual do germen no grão decresce com a idade do material, enquanto que a síntese dos carboidratos (avaliada pelo peso de 20 grãos e peso de 20 endospermas), possui um comportamento inverso, ou seja, vai aumentando até o final do ciclo. As Figuras 4, 5 e 6 ilustram o que ocorre com o teor de germen no grão durante o desenvolvimento do endosperma, ressaltando as diferenças existentes para cada tipo de textura de endosperma analisado.

5.5. Porcentagem de Proteína no Endosperma

Os dados obtidos para este item são apresentados na Tabela 20, enquanto que a análise da variância localiza-se na Tabela 21. As médias obtidas para este caracter estão apresentadas na Tabela 22.

De início, nota-se que o fator densidade de plantio age sobre o acúmulo de proteína do mesmo modo que o faz para peso de germens, ou seja, menores "stands" ocasionam maior acúmulo proteico ao final do ciclo vegetativo. Assim sendo, as densidades de plantio de 50.000 e 75.000 plantas/ha foram visivelmente superiores à densidade de 100.000 plantas/ha para o acúmulo proteico, confirmando-se, assim, os dados obtidos por SINGH e SINGH (1979), uma vez que D_1 apresentou o valor 24,22% para porcentagem de proteína contra os valores de 24,39% e 24,51% para D_2 e D_3 , respectivamente (Tabela 22). Cumpre ressaltar que este efeito de tamanho de população sobre o acúmulo de proteína é válido apenas quando se confunde os dois tipos de endospermas em estudo, uma vez que ao se estudar separadamente es

tes materiais, notou-se que o grupo dentado possui um comportamento diferente do grupo flint. Assim sendo, as progênies duras quando testadas na densidade D_1 apresentaram o valor 24,49% contra 24,61% para D_2 , enquanto que em D_3 o valor proteico foi de 24,97%. Em contrapartida, o material dentado apresentou os valores de 23,94%, 24,15% e 24,05% para D_1 , D_2 e D_3 , respectivamente, mostrando assim, que 75.000 plantas/ha é o "stand" ideal para acúmulo proteico em material dentado, e que 50.000 plantas/ha é a população ideal para o grupo flint (Tabela 22).

Comparando-se, agora, estes dois tipos de material, nota-se que o grupo flint possui um poder de síntese proteica superior ao grupo dentado, independentemente do tamanho de população por unidade de área. Desta maneira, as progênies flint obtiveram o valor 24,20% contra o valor 23,87% das dentadas. Isto ocorre justamente em função do fato de que as progênies duras possuem uma menor produção de grãos do que as dentadas, demonstrando-se assim, que produção de grãos e síntese de proteína correlacionam-se negativamente entre si.

Dentro do grupo flint observa-se também que as progênies de baixo teor de triptofano acumulam mais proteínas do que suas análogas de alto teor, uma vez que as primeiras acumularam 24,34% contra 24,06% destas últimas. Uma possível explicação para este comportamento talvez prenda-se ao fato de que o material flint possua um maior acúmulo de zeína, que é pobre em triptofano.

Para o grupo dentado, verifica-se que são as linhagens de alto triptofano que possuem maior porcentagem de proteína no endosperma, apresentando o valor de 24,25% contra 23,49% obtido pelas linhas de baixo

teor (Tabela 22).

Estas considerações iniciais são realçadas a seguir, quando analisa-se o acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma, nas oito progêneses S_2 em estudo, sob três densidades de plantio, uma vez que a análise da variância, localizada na Tabela 23, apontou significância estatística para as várias interações existentes.

No presente trabalho, verifica-se que a síntese proteica em cada linhagem é realmente influenciada pelas densidades de plantio e, este valor proteico varia com o estágio de desenvolvimento do endosperma, sendo que cada genotipo apresenta seu padrão característico de acúmulo, como se verifica na Tabela 22.

Assim sendo, observa-se que dentro do grupo flint há, realmente, diferenças para acúmulo proteico, onde as linhagens de baixo teor em triptofano concentram mais proteínas no endosperma, cujo valor médio é 24,34% contra 24,06% das de alto triptofano, conforme já mencionado. Nota-se, porém, que aos 7 DAP o material pobre em triptofano possui menor teor proteico (25,30%) do que seu análogo de alto teor (25,84%), contudo, a partir dos 14 DAP há um maior acúmulo nas linhas de baixo triptofano. Para estas progêneses, observou-se os seguintes teores de proteína durante o desenvolvimento do endosperma: 36,83% (14 DAP); 25,19% (21 DAP); 21,92% (28 DAP); 20,32% (35 DAP); 21,16% (42 DAP) e 20,94% (49 DAP). Nas progêneses flint de alto triptofano, os valores obtidos foram: 36,71% (14 DAP); 22,45% (21 DAP); 21,86% (28 DAP); 19,92% (35 DAP); 21,03% (42 DAP) e 20,84% (49 DAP) (Tabela 22).

Pelo apresentado, nota-se que a época de colheita de máximo

acúmulo proteico é a de 14 DAP, sendo que já aos 21 DAP ocorre uma queda acentuada na velocidade de síntese proteica que persiste até os 42 DAP, onde há um leve aumento na taxa de síntese que volta a decrescer aos 49 DAP, conforme está ilustrado na Figura 7.

Para o grupo dentado, verifica-se uma correlação positiva entre teor de triptofano e acúmulo de proteína no endosperma, notando-se, contudo, que aos 7 DAP as linhas de baixo teor do aminoácido acumulam mais proteínas, porém, já a partir dos 14 DAP, são as progênies de alto triptofano que sintetizam mais proteínas.

Nas linhas dentadas de baixo teor de triptofano, os valores detectados (Tabela 22) foram os seguintes: 26,06% (7 DAP); 34,77% (14 DAP); 22,00% (21 DAP); 21,51% (28 DAP); 19,00% (35 DAP); 19,99% (42 DAP) e 17,00% (49 DAP). Para as de alto triptofano obteve-se as seguintes porcentagens: 25,73% (7 DAP); 35,27% (14 DAP); 24,00% (21 DAP); 21,90% (28 DAP); 21,00% (35 DAP); 21,93% (42 DAP) e 19,00% (49 DAP).

De um modo geral, para o grupo dentado, novamente a época de 14 DAP foi a de maior acúmulo proteico sendo que a partir daí houve decréscimos na síntese até os 42 DAP, sendo que já aos 49 DAP ocorreu outra queda no teor proteico, como se verifica na Figura 8.

Como anteriormente dito, é o material flint que acumula mais proteína no endosperma a cada estágio de desenvolvimento deste tecido de reserva e, em decorrência deste fato, constata-se que o Composto ESALQ-VF-1 é menos produtivo que o ESALQ-VD-2, como já se discutiu no item peso de 20 grãos. A Figura 9 relaciona estes dois grupos de material, mostrando suas respectivas sínteses proteicas.

Assim sendo, o grupo flint apontou o seguinte padrão de acúmulo proteico (Tabela 22): 25,57% (7 DAP); 35,80% (14 DAP); 23,82% (21 DAP); 21,89% (28 DAP); 20,12% (35 DAP); 21,07% (42 DAP) e 20,87% (49 DAP), enquanto que o material dentado obteve os seguintes valores: 25,89% (7 DAP); 35,00% (14 DAP); 23,00% (21 DAP); 21,71% (28 DAP); 20,00% (35 DAP); 20,96% (42 DAP) e 18,00% (49 DAP).

Novamente, para ambos os grupos, o máximo acúmulo se deu aos 14 DAP, sendo que aos 49 DAP percebe-se uma queda bem acentuada no teor proteico, como se vê na Figura 9.

Feita esta discussão, conclui-se que a maior taxa de síntese proteica ocorre quando se usa menores densidades de plantio, aliadas a um genótipo que possua maior tamanho de germen, e que, por conseguinte, possua uma menor capacidade de produção de grãos, uma vez que síntese proteica correlaciona-se negativamente com produtividade, concordando-se, assim, com SOLARI (1978). Portanto, afirma-se que o Composto ESALQ-VF-1, submetido à densidade de plantio de 50.000 plantas/ha, acumula maiores teores proteicos do que o Composto ESALQ-VD-2, plantado na mesma população de plantas e colhido na mesma época que o material flint.

Este trabalho mostra também, que independentemente do tipo de endosperma, a síntese proteica, no milho, atinge um máximo teor aos 14 DAP (embora, aqui, haja uma certa porcentagem, embora pequena, de proteína do embrião), sendo que, já aos 21 DAP ocorre uma grande retração neste acúmulo. Dos 21 aos 35 DAP esta queda torna-se mais lenta, porém, continua progressiva. Dos 35 aos 42 DAP há um certo acréscimo na síntese, embora este não seja tão significativo, voltando a ocorrer um novo decréscimo nes

te acúmulo a partir dos 49 DAP, concordando, assim, com os dados de MISRA *et alii* (1974) e TSAI e DALBY (1974) no tocante a acúmulo proteico aos 14 DAP, porém, estes autores verificaram uma certa constância no nível de proteína dos 21 aos 49 DAP.

Confirmando a idéia de que há um decréscimo na síntese de proteína a partir dos 14 DAP, cita-se o trabalho de DOMASHEV *et alii* (1979), onde afirma-se haver maior acúmulo de nitrogênio total aos 15 DAP, sendo que a partir desta data, nota-se um decréscimo neste acúmulo.

Discordando dos trabalhos acima citados, MEHTA (1972) afirma que o máximo de síntese proteica ocorre aos 24 DAP (isto em função do fato de que aos 14 DAP há proteína de origem do germen e do endosperma), sendo que a partir desta época há uma retração no acúmulo, concordando, assim, com os dados de GUPTA *et alii* (1978), no tocante à época de máxima síntese; no entanto, estas duas últimas pesquisas concordam plenamente com o presente trabalho, ao afirmarem que após 25 DAP existe uma queda no acúmulo de proteína no endosperma do milho.

De um modo geral, confundindo-se os dois tipos de endosperma estudados, o presente trabalho propõe um valor médio, para porcentagem de proteína, de 19,43% aos 49 DAP, embora SHOWALTER e CARR (1922) afirmem que no milho normal, o teor proteico esteja compreendido entre 8 a 15,7 %, contrariando, também, os dados de GLOVER *et alii* (1973), que sugerem o valor de 11,6%, para a mesma época de 49 DAP.

Para estágios mais imaturos de desenvolvimento do grão, o presente trabalho obteve os seguintes valores médios: 25,73% (7 DAP); 35,40% (14 DAP); 23,41% (21 DAP); 21,80% (28 DAP); 20,06% (35 DAP); 21,01% (42

DAP) e 19,43% (49 DAP), enquanto que TOSELLO (1974) obteve os valores de 14,50% e 11,7% para os estágios de 21 e 42 DAP, respectivamente.

De qualquer forma, este trabalho concorda com os demais, ao realçar o fato de que o milho deve ser usado, principalmente, como fonte de energia, uma vez que ao final do ciclo vegetativo da planta, o endosperma terá acumulado maior teor de matéria seca (na forma de carboidratos) e menor teor de proteína.

5.6. Porcentagem de Triptofano

A Tabela 24 resume os dados experimentais para este carácter, sendo que sua análise estatística é apresentada na Tabela 25. As médias obtidas a partir destes dados encontram-se na Tabela 26.

A análise da variância para esta característica nos indica que as três densidades de plantio possuem diferentes ações sobre o acúmulo de triptofano durante o desenvolvimento do endosperma de milho, uma vez que se detectou diferenças significativas entre as médias para este tratamento, como se verifica na Tabela 25.

Assim sendo, como no acúmulo de proteína, o menor "stand" levou a uma maior síntese de triptofano nos dois tipos de endosperma estudados, à cada época de colheita analisada, propiciando, assim, um maior teor de triptofano quando as linhagens foram testadas na densidade D_3 , que apresentou o valor de 24,039% contra os valores de 23,532% e 23,555% para D_1 e D_2 , respectivamente (Tabela 26).

Entre as linhagens, também notou-se variações de síntese, sendo que agora, é o material flint que acumula menores teores do aminoácido (23,699%), enquanto que o grupo dentado sintetiza maiores teores (23,720%), uma vez que o teste F apontou significância estatística entre as médias obtidas, como se vê nas Tabelas 25 e 26.

Pelo fato de o menor teor de triptofano estar associado a um tipo de endosperma que acumula, comparativamente, mais proteína, reforça-se, mais uma vez, a idéia de que o milho não deve ser usado como fonte proteica na alimentação animal, uma vez que sua proteína é pobre em aminoácidos essenciais.

Dentro de cada tipo de endosperma, o acúmulo de triptofano se processa da mesma forma que o acúmulo de proteína, uma vez que as progênies flint denominadas, *a priori*, de baixo teor do aminoácido (valor determinado no grão maduro) acumulam maiores teores (23,954%) do que suas análogas de alto teor (no grão maduro), cujo valor é de 23,445%, enquanto que no grupo dentado as progênies de alto teor (grão maduro) sintetizam mais triptofano (24,827%) do que as de baixo teor do aminoácido, no grão maduro cujo valor obtido foi de 22,601% (Tabela 26).

De um modo geral, os dois tipos de milho estudados sintetizaram maiores teores de triptofano aos 21 DAP, cujo valor médio foi de 51,107%, sendo que já aos 28 DAP houve uma queda na taxa de síntese, tendo-se observado o valor de 26,204%. Daí para frente, os decréscimos continuaram, porém, foram menos intensos, já que se obteve os seguintes valores: 16,06570 para 35 DAP; 13,354% para 42 DAP; 11,785% para 49 DAP (Tabela 26). Ressalta-se, aqui, que as idades de 7 e 14 DAP não puderam ser

avaliadas, pelo fato de não se ter conseguido a coloração adequada nas amostras moídas, prendendo-se este fato, à impossibilidade de dessecação do material, em virtude de seu reduzido tamanho.

Contudo, o presente trabalho, ao sugerir ser a época de 21-28 DAP o ponto de maior síntese de triptofano, concorda com os dados de ZINK (1977), onde afirma-se ser os 24 DAP a época de máximo acúmulo, concordando, também, com DMITRIEVA e LUK'VANENKO (1979) que sugerem que o máximo de síntese ocorre entre 20 e 30 DAP, sendo, que nesta última época (30 DAP) nota-se uma acentuada queda no acúmulo, concordando-se, assim, mais uma vez com o presente trabalho, onde a época de 28 DAP, embora apresentando altos teores de triptofano, em relação às épocas de 35, 42 e 49 DAP, acumula bem menos aminoácidos quando comparada à época de 21 DAP.

Neste trabalho, o material flint apresentou a seguinte taxa de síntese de triptofano (Tabela 26): 49,411% aos 21 DAP; 27,269% aos 28 DAP; 16,500% aos 35 DAP; 13,709% aos 42 DAP; 11,519% aos 49 DAP. As progênies duras de baixo teor em triptofano mostraram o seguinte tipo de acúmulo: 49,990% (21 DAP); 27,934% (28 DAP); 17,408% (35 DAP); 13,128% (42 DAP) e 11,310% (49 DAP), enquanto que as de alto teor apresentaram-se do seguinte modo: 48,828% (21 DAP); 26,600% (28 DAP); 15,772% (35 DAP); 14,289% (42 DAP); 11,733% (49 DAP).

Aqui, há de se ressaltar o que ocorre na época de 35 DAP para as progênies flint de baixo e alto teor em triptofano. Pelos dados obtidos, nota-se que as progênies de baixo triptofano possuem um maior poder de síntese do que suas análogas de alto teor até os 35 DAP, uma vez que se obteve o valor 31,776% (valor médio das três épocas) para as primeiras con

tra 30,400% para as últimas. A partir deste ponto, há uma inversão no poder de síntese, sendo que agora progênies de alto triptofano sintetizam este aminoácido com uma velocidade maior (13,011%) do que suas análogas de baixo teor (12,219%). Assim sendo, depreende-se que as progênies de baixo teor do aminoácido (grão maduro) apresentaram maior síntese de triptofano apenas nos primeiros estágios de desenvolvimento do grão (até 35 DAP), sendo que a partir desta época, passam a sintetizar menores teores a cada estágio de desenvolvimento, chegando a um ponto de baixa síntese, que coincide com o ponto de maturação fisiológica do grão, vindo este fato a concordar com a análise de laboratório inicial, pela qual, determinou-se, à priori, o baixo teor de triptofano existente nestas progênies flint, conforme se verifica na Figura 10.

Já no grupo dentado (Tabela 26), observou-se o seguinte padrão de síntese: 52,805% (21 DAP); 25,140% (28 DAP); 15,530% (35 DAP); 13,050% (42 DAP) e 12,050% (49 DAP). As progênies dentadas de baixo triptofano apresentaram a seguinte evolução: 48,605% (21 DAP); 25,060% (28 DAP); 15,431% (35 DAP); 12,495% (42 DAP) e 11,291% (49 DAP), enquanto que as progênies de alto triptofano obtiveram os seguintes valores: 57,000% (21 DAP); 25,215% (28 DAP); 15,629% (35 DAP); 13,622% (42 DAP) e 12,800% (49 DAP). Neste caso, nota-se que as progênies denominadas de baixo triptofano (no grão maduro) permanecem inferiores, quanto à taxa de síntese do aminoácido às progênies de alto teor, a cada estágio de desenvolvimento do grão, não se observando, portanto, a inversão de poder de síntese que ocorre no grupo flint, aos 35 DAP, conforme se verifica na Figura 11.

Relacionando-se os dois tipos de endosperma em estudo, nota

se que aos 21 DAP o material duro sintetiza menos triptofano (49,411%) do que o material dentado (52,805%), contudo, dos 28 aos 42 DAP, o grupo flint possui uma maior taxa de síntese, sendo que já aos 49 DAP é o grupo dentado que sintetiza maiores teores do aminoácido, advindo, daí, a melhor qualidade proteica do material dentado ao fim do ciclo vegetativo da planta, como se vê na Figura 12.

Pelo exposto, depreende-se que os tipos de milho que possuem uma maior produção em grãos (matéria seca), apresentam um menor acúmulo proteico, embora, esta proteína seja mais rica em triptofano (no grão maduro), enquanto que os materiais pouco produtivos acumulam maiores teores em proteína, que, em contrapartida, apresentam-se com baixas concentrações deste aminoácido (no grão maduro), tornando-se evidente a necessidade de se procurar no milho normal uma combinação gênica que ofereça condições para se conseguir um milho de melhor qualidade proteica. Ressalta-se, contudo, que estes padrões de acúmulo proteico podem sofrer variações, dependendo do tipo de germoplasma e das condições ambientais, tais como adubações nitrogenadas.

5.7. Porcentagem de Triptofano na Proteína

Os dados obtidos para este caracter são apresentados na Tabela 27. Sua análise estatística encontra-se na Tabela 28 e, as médias deste caracter são vistas na Tabela 29.

Observa-se que para porcentagem de triptofano na proteína, o efeito de densidades de plantio também possui o mesmo tipo de ação visto

para os dois últimos caracteres estudados, onde a menor densidade de plantio, representada por 50.000 plantas/ha, propiciou os maiores teores do aminoácido na proteína total do endosperma. Desta forma, a densidade D_3 apresentou o valor 2,238%, contra os valores 2,100% e 2,134% para D_1 e D_2 , respectivamente (Tabela 29).

Entre os grupos de material testados, notou-se, também, que os tipos flint acumularam menores teores de triptofano na proteína (2,134%) do que os dentados (2,180%), confirmando-se, assim, os dados obtidos para o caracter porcentagem de triptofano visto anteriormente (Tabela 29).

Os padrões de acúmulo deste aminoácido na proteína total dentro de cada grupo de endosperma estudado, mostraram-se semelhantes ao ocorrido para itens anteriores. Assim sendo, para o material flint, progênes denominadas de baixo triptofano acumularam mais aminoácidos na proteína total (2,164%) do que seus análogos de alto teor, cujo valor obtido foi de 2,104%. Já para o grupo dentado, observou-se uma correlação positiva entre teor de triptofano e porcentagem de triptofano na proteína total, uma vez que progênes de baixo triptofano obtiveram o valor 2,123% contra 2,237% das de alto teor (grão maduro), como se vê na Tabela 29.

Desta forma, o grupo flint apresentou o seguinte padrão de acúmulo de triptofano na proteína (Tabela 29): 4,303% aos 21 DAP; 2,359% aos 28 DAP; 1,500% aos 35 DAP; 1,228% aos 42 DAP e 1,102% aos 49 DAP. Suas progênes de baixo triptofano apontaram o seguinte padrão do aminoácido: 4,543% para 21 DAP; 2,423% para 28 DAP; 1,542% para 35 DAP; 1,241% para 42 DAP e 1,125% para 49 DAP, enquanto que as linhagens de alto teor comportaram-se do seguinte modo: 4,063% aos 21 DAP; 2,295% aos 28 DAP; 1,458% aos

35 DAP; 1,215% aos 42 DAP e 1,078% aos 49 DAP. A Figura 13 mostra graficamente o comportamento dessas progênies.

No material dentado, observou-se o seguinte acúmulo de triptofano na proteína total (Tabela 29): 4,258% (21 DAP); 2,471% (28 DAP); 1,645% (35 DAP); 1,422% (42 DAP) e 1,280% (49 DAP). As progênies de baixo teor em triptofano apontaram o seguinte padrão de acúmulo: 4,048% (21 DAP); 2,433% (28 DAP); 1,544% (35 DAP); 1,231% (42 DAP) e 1,252% (49 DAP). As progênies de alto triptofano tiveram o seguinte acúmulo: 4,469% (21 DAP); 2,509% (28 DAP); 1,747% (35 DAP); 1,614% (42 DAP) e 1,307% (49 DAP). Na Figura 14 está representado graficamente essa distribuição.

Em termos médios, entre o material flint e o dentado, o padrão de acúmulo de triptofano na proteína total, estimado, foi o que se segue: 4,281% aos 21 DAP; 2,415% aos 28 DAP; 1,573% aos 35 DAP; 1,326% aos 42 DAP e 1,191% aos 49 DAP, e é representado graficamente na Figura 15.

Deste modo, compreende-se que a época de 21 DAP foi a idade onde mais se acumulou triptofano na proteína, nas três densidades de plantio, independentemente de tipos e teores das linhagens analisadas. Em seguida a esta época, foi aos 28 DAP onde o acúmulo de triptofano obteve altos teores, embora tenha-se notado uma acentuada queda neste acúmulo (77,00%), sendo que a partir desta data, os teores do aminoácido iniciaram uma queda progressiva. Assim sendo, aos 35 DAP, houve uma outra diminuição de triptofano na proteína, sendo que a partir daí, os decréscimos, embora significativos, já não foram tão marcantes entre si.

Nota-se, também, que com o passar das épocas, para as três

densidades de plantio, os teores de proteína tendem a decrescer para os dois tipos de endosperma, respeitando-se os padrões de acúmulo existentes dentro de cada tipo, como já observado, o mesmo ocorrendo para acúmulo de triptofano, embora as épocas de máxima síntese para proteína e triptofano sejam diferentes entre si. Assim sendo, observa-se que o maior acúmulo do aminoácido ocorre quando já há uma diminuição na síntese proteica, explicando este fato, o porquê da baixa concentração de triptofano na proteína total do milho ao fim do ciclo vegetativo da planta, uma vez que, também, o gradiente de queda para síntese de triptofano entre 21 e 28 DAP é bem maior do que o existente para proteína nestas mesmas épocas, como se vê nas Figuras 9 e 15.

Com isto pretende-se mostrar que a razão da baixa concentração de triptofano na proteína total de milhos normais, se prende ao fato de que, durante o desenvolvimento do endosperma, a síntese proteica vai decrescendo lentamente até a fase de maturação, enquanto que o acúmulo de triptofano possui quedas maiores, como se verifica ao comparar as Figuras 9 e 12. Portanto, em termos de valor nutricional do milho, depreende-se que a fase de milho verde é mais indicada para uma dieta adequada em termos de quantidade e qualidade de proteína, uma vez que é aos 21 DAP que se tem o melhor balanceamento de proteína (23,41%) e de triptofano (4,281%). Embora seja esta a época de melhor condição nutricional, verifica-se que até a idade de 42-49 DAP (ainda estágio de milho verde), encontra-se bons níveis de proteína e triptofano no endosperma do milho.

Finalizando, depreende-se, também, que quantidade e qualida

de proteica correlacionam-se negativamente, uma vez que o Composto ESALQ-VD-2 (que acumula menores teores de proteína em relação ao Composto ESALQ-VF-1) é o material que sintetizou maiores teores de triptofano, durante o desenvolvimento do endosperma, como se verifica na Figura 15.

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho nos permite chegar às seguintes conclusões:

1. Para acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento dos grãos de milho, o Composto ESALQ-VF-1 (de endosperma flint) mostrou-se inferior ao Composto ESALQ-VD-2 (de endosperma dentado), uma vez que este tenha acumulado maiores quantidades de carboidratos à cada época de colheita estudada. Esta conclusão baseia-se nos dados obtidos para peso de 20 grãos e peso de 20 endospermas.

2. Para o grupo flint, observou-se que as progênies de baixo teor de triptofano acumulam maior teor de matéria seca do que suas análogas de alto teor, enquanto que no material dentado existe uma correlação positiva entre peso de grão e teor do aminoácido.

3. Para acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma, verifica-se que o Composto ESALQ-VF-1 possui maior taxa de síntese (1,4% superior ao Composto ESALQ-VD-2), constatando-se, assim, que real

mente existe uma correlação negativa entre maior capacidade de peso de grãos e síntese proteica. Observa-se, também, que a menor densidade de plantio, que concorreu para um menor peso de grãos, foi a que levou a um maior acúmulo de proteína (da ordem de 24,51% ao fim do ciclo vegetativo das linhagens testadas.

4. A época em que se constatou maior acúmulo proteico, para os dois tipos de endosperma estudados foi a data de 14 DAP, que acusou uma superioridade sobre a época de 49 DAP, da ordem de 82,20%, demonstrando-se, assim, o valor do "milho verde" sob o aspecto nutricional, na dieta de monogástricos.

5. Em termos de qualidade de proteína, conclui-se que o endosperma com alta síntese proteica (material flint) acumula menores teores de triptofano na proteína (cerca de 5,5% a menos) do que o de baixa síntese de proteína (grupo dentado), sendo que as menores densidades populacionais causam um maior acúmulo deste aminoácido (6,5% a mais). Aqui, também, as primeiras semanas após a polinização mostraram-se como a fase de maior síntese de triptofano, para os dois tipos de milho estudados.

Em linhas gerais, conclui-se, portanto, que o milho normal a nível de grão maduro deve ser usado apenas como fonte energética na alimentação animal, uma vez que para se obter um alto teor proteico neste cereal, há de se utilizar materiais de baixa produtividade de grãos, aliados a pequenas densidades de plantio, que pelo fato de causarem maiores tamanhos de embrião, reduzem ainda mais a capacidade produtiva do material, tornando, assim, a cultura do milho anti-econômica.

Além deste fato, ressalta-se, ainda, que a proteína do mi

milho é pobre em aminoácidos essenciais, uma vez que o acúmulo de triptofano mostrou-se inversamente proporcional à capacidade de síntese proteica dos materiais aqui estudados, durante o desenvolvimento do endosperma, avivando isto, a necessidade de se procurar no milho normal, uma composição genética mais adequada para a obtenção de um milho de melhor qualidade proteica, sem se alterar, contudo, as características físico-químicas do endosperma, uma vez que estas influem diretamente numa maior produção de grãos.

Assim sendo, sugere-se que o material dentado, aqui representado pelo Composto ESALQ-VD-2, talvez seja o ponto de partida para o melhoramento do fator proteína do milho, uma vez que este material possui alta produtividade de grãos e razoável qualidade proteica, necessitando, contudo, de uma melhoria em seu teor de proteína, o que pode ser conseguido através de um efetivo esquema de seleção.

7. LITERATURA CITADA

A.O.A.C., 1965. Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 10a. edição. p. 744-745.

ALEXANDER, D.E.; J.W. DUDLY e R. LAMBERT, 1979. *Modified protein maize breeding in the United States*. Bulletin nº 30. Dep. Plant Genetics, ILL Univers, Urbana, USA.

BENEZE, W.L. e K. SCHMID, 1975. The aminoacid tryptophan. *Ann. Chem.*, 29: 1193-1196.

BUKREVA, G.I. e T.P. FILIPAS, 1980. Accumulation of dry matter, protein and normal maize during development. *Referativnyi Zhurnal*, 5(55): 218-222. In: *Maize Quality Protein Abstracts*, 1981, 3(1): 44 (Abst.).

CAVENAGUE, J.C. e J.L. AZEVEDO, 1968. Determinação microbiológica da lisina em milho por um novo mutante isolado em *Aspergillus nidulans*. *O Solo*, 60(1): 71-72.

CORRENTI, J. e R.M. SOLARI, 1972. Asociacion entre la condicion harinosa

y los componentes prácticos del endosperma en la mutante opaque-2.

Induced mutations and plant improvement. *Proc.* Buenos Aires e IAEA, Viena. p. 365-368.

DALBY, A. e I. ab. I. DAVIES, 1967. Ribonuclease activity in developing seeds of normal and opaque-2 maize. *Science*, 155: 1573-1575.

DALBY, A. e I. ab. I. DAVIES, 1972. Biosynthesis of proteins in cereals. *Symposium: Seed Protein*, 4: 39-49.

DENIĆ, M., 1969. On the role of some components involved in the synthesis of storage protein in maize. *Agrochimica*, 13: 143-150. *In: Maize Quality Protein Abstracts*, 1970, 2(4): 177 (Abst.).

DENIĆ, M.; J. DUMANOVIĆ; R. SIMIĆ; K. KONSTANTINOVIK; D. JELENIĆ e V. SUKALOVIĆ, 1980. Study of gene action in synthesis of storage protein in maize. *Agrochimica*, 7: 70-74. *In: Maize Quality Protein Abstracts*, 1981, 3(5): 189 (Abst.).

DOMASHNEV, P.P.; S.S. GOLUB; I.S. TSYGANOK e V.V. GLUSHKOV, 1979. Content of forms of N in normal and high lysine during ripening of maize grain. *Referativnyi Zhurnal*, 8: 31-35. *In: Maize Quality Protein Abstracts*, 1980, 4(4): 53 (Abst.).

DUVICK, D.N., 1961. Protein granules of maize endosperm cells. *Cereal Chem.*, 38: 374-385.

DMITRIEVA, A.N. e L.M. LUK'YANENKO, 1979. Lysine and tryptophan accumulation in kernels of high lysine maize. *Fiziologiya i Biokhimiya*, 8(5): 54-55. *In: Maize Quality Protein Abstracts*, 1980, 4(4): 58 (Abst.).

- FROMBERG, H.K.; W. CHRIST e W.G. FOLLMER, 1971. A rapid method based on butanol extraction for selecting high-lysine maize. *Crop Science*, 11: 567-569.
- GLOVER, D.V.; P.L. CRANE; P.S. MISRA e E.T. MERTZ, 1973. Genetics of endosperm mutants in maize as related to protein quality and quantity. Journal Paper n° 4997. Purdue Agricultural Station.
- GUPTA, H.O.; M.L. LODHA; J. SINGH e S.L. METHA, 1978. Protein quality of normal and opaque-2 maize at different stages of ripening. *Journal of Food Science and Technology*, 15(4): 148-149.
- HERNANDEZ, H. e L.S. BATES, 1969. A modified method for rapid tryptophan analysis of maize. Research Bull. n° 13 - CIMMIT. 12 p.
- INGLE, J. e R.H. HAGEMAN, 1965a. Metabolic changes associated with the germination of corn. II. Nucleic acid metabolism. *Plant Physiology*, 40: 48-53.
- INGLE, J.; D. BEITZ e R.H. HAGEMAN, 1965b. Changes in composition during development and maturation of maize seeds. *Plant Physiology*, 40: 835-839.
- JONES, R.A.; B.A. LARKINS e C.Y. TSAY, 1976. Regulation of zein synthesis in maize endosperm. *Plant Physiology*, 57(5): 36-38.
- JONES, R.A.; B.A. LARKINS e C.Y. TSAY, 1977. Storage protein synthesis in maize. *Plant Physiology*, 59: 733-737.
- LANDRY, J. e T. MOREAUX, 1970. Heterogeneite des glutelins du grain du

- mais: Extraction selective et composition en acides amines des trois fractions isolees. *Bull. Asc. Chemie Biologique*, 52: 1021-1027.
- LEE, K.H.; R.A. JONES; A. DALBY e C.Y. TSAY, 1976. Genetic regulation of storage protein content in maize endosperm. *Biochemical Genetics*, 14 (718): 641-650.
- MERTZ, E.T. e R. BRESSANI, 1957. A method of extracting cereal proteins. *Cereal Chem.*, 34: 63-69.
- MERTZ, E.T.; L.S. BATES e O.E. NELSON, 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145: 279-280.
- MERTZ, E.T.; L.S. BATES e O.E. NELSON, 1965a. Second mutant gene affecting the aminoacid pattern of maize endosperm protein. *Science*, 150: 1469-1470.
- MERTZ, E.T.; O.A. VERON; L.S. BATES e O.E. NELSON, 1965b. Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science*, 148: 1741-1742.
- MEHTA, S.L., 1972. Changes in the nucleic acid and protein fractions in opaque-2 maize kernels during development. *Phytochemistry*, 11: 937-942.
- MISRA, P.S.; E.T. MERTZ e D.V. GLOVER, 1974. Studies on corn proteins VII. Developmental changes in endosperm proteins of high-lysine mutants. Journal Paper 5566. Purdue Agricultural Station.
- MURPHY, J.J. e A. DALBY, 1971. Changes in the protein fractions of developing normal and opaque-2 maize endosperms. *Cereal Chem.*, 48(3): 336-348.

- NELSON, O.E., 1967a. Biochemical genetics of higher plants. *Ann. Rev. Genet.*, 1: 245-263.
- NELSON, O.E., 1967b. A mutant gene affecting protein synthesis in maize endosperm. *Genetica Agraria*, 11: 209-229.
- NELSON, O.E., 1969. Genetic modification of protein quality in plants. *Advan. Agron.*, 21: 171-193.
- NELSON, O.E. e M. TU. CHANG, 1974. Effect of multiple aleurone layers on the protein and aminoacid content of maize endosperm. *Crop Science*, 14: 374-376.
- OZUNA, J.A., 1971. Seleção massal estratificada para produção em duas populações de milho (*Zea mays*, L.). Tese de Doutorado submetida à Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia de Jaboticabal.
- PAEZ, A.V.; J.L. HELM e M.S. ZUBER, 1969. Lysine content of 02 maize kernel having different phenotypes. *Crop Science*, 9: 251-252.
- PATERNIANI, E., 1968. Formação de compostos de milho. ESALQ, Instituto de Genética. Relatório Científico nº 2, Piracicaba, S.P. p. 102-108.
- PISANSKII, A.P. e I.S. TSYGANOK, 1975. Rapid determination of protein quality of maize grains. *Byulleten' Vsesoyuznogo Instituta Kukuruzy*, nº 3: 59-62. In: *Maize Quality Protein Abstracts*, 1976, 3(2): 1374 (Abst.).
- PY' LNEVA, P.N., 1974. Changes in the qualitative and quantitative composition of the protein in the endosperm of germinating seeds of normal and high-lysine maize. *Referativnyi Zhurnal*, 10(55): 170-177. In: *Maize Quality*

Protein Abstracts, 1975, 4(2): 54 (Abst.).

PY'LNEVA, P.N. e Y.I. GIRGLIA, 1978. Study of biochemical heterogeneity of the protein in normal and high-lysine maize at different stages of maturation. *Fiziologiya e Biochimya*, 10(4): 312-396. In: *Maize Quality Protein Abstracts*, 1979, 3(2): 1374 (Abst.).

RANDOLPH, L.F.; 1936. Developmental morphology of the cariopsis in maize. *J. Agricult. Res.*, 53: 881-916.

RIBERIAL, V.C., 1973. Effects of modified opaque-2 kernels on yield and protein quality of maize (*Zea mays*, L.). Ph.D. Thesis, Purdue University, Indiana, USA.

ROBUTTI, J.L.; R.C. HOSENEY e C.W. DEYONE, 1974. Modified opaque-2 corn endosperm. I. Protein distribution and aminoacid composition. *Cereal Chem.*, 51: 163-172.

RUSCHEL, R., 1972. Selection for oil and relationships among oil, protein in opaque 2 population of maize (*Zea mays*, L.). Ph.D. Thesis, Purdue University, Indiana, USA.

RYADCHIKOV, V.G.; A.V. LEBEDEV; V.P. NEUDACHIN e V.G. ZIMA, 1979. Synthesis of proteins, their components and aminoacid composition in opaque-2 corn. *Referativnyi Zhurnal*, 8(4): 200-206. In: *Maize Quality Protein Abstracts*, 1980, 2(4): 88 (Abst.).

SEMIČ, R. e M. DENIČ, 1975. Relationship between protein composition and the content of free aminoacids in the endosperm of a normal genotype and opaque-2 mutant of maize. *Genetika*, 7(1): 25-40. In: *Maize Quality*

Protein Abstracts, 1976, 3(5): 71 (Abst.).

SHOWALTER, M.F. e R.H. CARR, 1922. Characteristic proteins in high and low corn. *J. Am. Chem Soc.*, 44: 2019-2023.

SINGH, B.N. e J. SINGH, 1979. Estimation of genetic advance at various plant population densities in an opaque-2 maize composite. (Abstract). Cremmings Lab., Indian Agric. Res. Inst., New Delhi, India.

SLUMP, P. e H.A. SCHEUDEE, 1969. Determination of tryptophan in foods. *Ann. Biochim.*, 27: 182-185.

SMITH, C.R.; J.R. EARLE; F.R. WOLFF e Q. JONES, 1959. The storage proteins of seeds. *J. Agr. Food Chem.*, 7: 133-136.

SOAVE, C.; F. PIOLI; A. VIOTTI; F. SALAMINI e P.G. RIGUETTI, 1975. Synthesis and heterogeneity of endosperm protein in normal and opaque-2 maize. *Maydica*, vol. XX(2): 83-94.

SOAVE, C.; E. GENTINETTA; M. ARCHETTI; F. SALAMINI e C. LORENZONI, 1979. Genetic control of zein synthesis in maize endosperm. *Giornali Botanico Italiano*, 111(4): 300-305.

SODEK, L. e C.M. WILSON, 1971. Aminoacid composition of protein isolated from normal, opaque-2 and floury-2 corn endosperms by a modified Osborne procedure. *J. Agr. Chem.*, 19: 1144-1150.

SOLARI, R.M., 1978. Structural changes in the maize grain conditioned by the system regulating protein content. Correlations between protein and grain components. *Revista de la Facultad de Agronomia, Universidad Nacional de La Plata*, 54(1): 223-235. Instituto Fitotecnico de Santa

Catalina, Lhavallo, Buenos Aires, Argentina.

- SUKALOVIĆ, V.; M. DENIĆ e D. JELENIĆ, 1979. Comparison of some chemical methods for screening maize genotypes with improved protein quality. *Referativnyi Zhurnal*, 35: 57-58. In: *Maize Quality Protein Abstracts*, 1980, 2(4): 80 (Abst.).
- SPIES, J.R. e D.C. CHAMBERS, 1949. Determination of tryptophan. *Ann. Chem.*, 21: 1249-1266.
- SYOEV, A.F. e S.A. IGNATOVA, 1974. Regulation of the biosynthesis of lysine in seedlings of opaque-2 and normal maize. *Referativnyi Zhurnal*, 10(55): 180-182. In: *Maize Quality Protein Abstracts*, 1975, 2(3): 74 (Abst.).
- TOSSELLO, G.A., 1974. Evaluation of protein and carbohydrate quality and content in selected endosperm mutants and their double mutant combinations with opaque-2 at two immature stages of development in *Zea mays* L. Ph.D. Thesis, Purdue University, Indiana, USA.
- TSAI, C.Y.; L.W. HANSELL e O.E. NELSON, 1972. A colorimetric method of screening maize seeds for lysine content. *Cereal Chem.*, 49: 572-579.
- TSAI, C.Y. e A. DALBY, 1974. Comparison of the effect of shrunken 4, opaque-2, opaque-7 and floury-2 genes on the zein content of maize during endosperm development. *Cereal Chem.*, 51: 825-829.
- TSAI, C.Y.; A. DALBY e R.A. JONES, 1975. Lysine and tryptophan increases during germination of maize seed. *Cereal Chem.*, 52(3): 356-360.
- TSAI, C.Y.; D.M. HUBER e H.L. WARREN, 1978. Relationship of the kernel sink

- for N to maize productivity. *Crop Science*, 17: 399-404.
- TSAI, C.Y., 1979. Early determination of zein accumulation in opaque-2 maize mutant. *Maydica*, vol. XX(3): 129-140.
- VIOTTI, A.; E. SALA; P. ALBERI e C. SOAVE, 1975. RNA metabolism and polysome profiles during seed development in normal and opaque-2 maize endosperm. *Maydica*, vol. XX(1): 111-124.
- WATSON, S.A., 1966. Comparison of the wet-milling properties of opaque-2 and normal dent corn. *Proc. High Lysine Corn Conf., Purdue University, 1966*, p. 117-120. Corn. Ind. Res. Found. Washington, D.C.
- WATSON, S.A. e K.R. YAHL, 1967. Comparison of the wet-milling properties of opaque-2, high lysine and normal corn. *Cereal Chem.*, 44: 488-498.
- WILSON, P.M. e D.P. ALEXANDER, 1967. Ribonuclease activity in normal and opaque-2 mutant endosperm of maize. *Science*, 155: 1575-1756.
- WOLF, M.J.; V. KHO e H.L. SECKINGER, 1967. Subcelular structure of endosperm protein in high-lysine and normal corn. *Science*, 157: 556-557.
- WOLF, M.J.; V. KHO e H.L. SECKINGER, 1969. Distribution of subcelular structure of endosperm protein in varieties of ordinary and high-lysine maize. *Cereal Chem.*, 46: 253-263.
- WOLF, M.J.; H.C. CUTLER; M.S. ZUBER e U. KHOO, 1972. Maize with multilayer aleurone of high protein content. *Crop Science*, 12: 440-442.

ZELNY, L., 1935. The distribution of nitrogen in the seed of *Zea mays* L. at different stages of maturity. *Cereal Chem.*, 12: 536-542.

ZINK, P., 1977. Studies on formation in grain of high-lysine hybrids during grain ripening. Dissertation, Universitat Hohenheim (L.H.), German Federal Republic. 109 p. In: *Maize Quality Protein Abstracts, 1978*, 4(2): 1314 (Abst.).

A P E N D I C E

APÊNDICE 1

Determinação de Proteína

Como já relatado, o conteúdo em nitrogênio (N) pôde ser estimado usando-se o método MICO-KJELDAHL e a porcentagem de proteína foi calculada usando-se o fator 6,25.

Para tanto, lançou-se mão dos seguintes reagentes:

1) ácido sulfúrico com densidade (d) de 1,84, livre de N;

2) mistura catalítica:

396,00 g de K_2SO_4 ;

16,40 g de HgO;

3,20 g de

3) Hidróxido de sódio-tri-sulfato de sódio: para sua obtenção, dissolveu-se em água destilada 500 g de NaOH e 50 g de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, completando-se o volume para 1.000 ml;

4) ácido bórico a 4%: dissolveu-se 40 g em 1.000 ml de água;

5) methyl red-bromocresol verde (solução indicadora): misturou-se uma parte de methyl red a 0,02% em etanol com cinco partes a 0,02 % de bromocresol verde em etanol;

6) ácido clorídrico a 0,02 normal.

Após a obtenção destes reagentes, adotou-se o seguinte procedimento:

1) Colocou-se 40 mg da amostra em balão de Kjeldahl, adicionando-se 1 g da mistura catalítica com 2,5 ml de H_2SO_4 concentrado.

2) Digeriu-se a mistura acima por uma hora até que a solução obtivesse uma coloração clara, resfriando-se em seguida. Para dissolver sólidos aderidos na parede do frasco, adicionou-se 8 ml de água destilada.

3) Logo após, transferiu-se o material para o destilador de nitrogênio, lavando-se o frasco por cinco vezes com 2 ml de água. Colocou-se sob o condensador um Erlenmeyer de 50 ml contendo 6 ml de ácido bórico e 4 gotas do indicador (aqui, tomou-se o cuidado de mergulhar a ponta do condensador abaixo do nível da solução de ácido bórico). Adicionou-se, pela tubuladura lateral do destilador, 10 ml da solução de $\text{NaOH} \cdot \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, e destilou-se por cinco minutos (até que, pelo menos, 50 ml do destilado tivessem sido recebidos no Erlenmeyer).

A seguir, procedeu-se à titulação da solução até que uma primeira coloração salmon surgisse (usou-se, aqui, HCl a 0,02N).

Para um controle do cálculo da porcentagem de nitrogênio, fez-se um "blank", usando-se, para tanto, as mesmas quantidades de reagentes e o mesmo tempo de digestão e destilação evitando-se, contudo, o uso da amostra de milho.

O cálculo da porcentagem de nitrogênio é dado pela fórmula:

$$\% N = \frac{(X_1 - X_2) \times N_o \times \text{P.A.N.}}{Y} \cdot 100$$

onde: % N = porcentagem de nitrogênio;

X_1 = ml de HCl gastos na titulação da amostra;

X_2 = ml de HCl gastos na titulação do "blank";

N_0 = normalidade do HCl (0,02);

P.A.N. = peso atômico do nitrogênio (14,007);

Y = peso da amostra (40 mg).

E, assim:

$$\% P = \% N \times 6,25$$

onde: % P = porcentagem de proteína.

Para facilidade de manuseio, a fórmula acima pode ser modificada do seguinte modo:

$$\% P = \frac{\% \text{ HCl gasto}}{Y} \cdot F$$

onde: % P = porcentagem de proteína;

% de HCl gasto = $X_1 - X_2$;

F = fator obtido do seguinte modo:

$F = \text{P.A.N.} \times N_0 \times 6,25 = 178,06549$;

Y = peso da amostra (40 mg).

APÊNDICE 2.

Determinação de Triptofano

Para obtenção dos reagentes necessários, procedeu-se da seguinte forma:

1) Pesou-se 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e adicionou-se 0,5 ml de água destilada e diluiu-se para 1 litro com ácido acético glacial (solução A);

2) Empregou-se uma solução de H_2SO_4 concentrado (B);

3) Misturou-se em proporções iguais os reagentes A e B originando, assim, a mistura C (que foi preparada 1 hora antes de ser usada);

4) Obteve-se uma solução de papaina. Para tanto, dissolveu-se 4 mg de papaina em acetato de sódio, solução tampão a pH 7,00 (400 mg de papaina/100 ml de acetato). A solução da enzima foi preparada diariamente.

Relata-se, a seguir, o procedimento adotado:

Pesou-se 100 mg da amostra de milho, colocou-se num tubo de ensaio e adicionou-se 4 ml da solução de papaina. Em seguida, agitou-se o conjunto para que toda a amostra ficasse umedecida. Preparou-se, também, um "blank" com papaina.

Todo material foi incubado a 65°C durante a noite (12 horas). Após a incubação, agitava-se os tubos e os deixava descansar para que o sobrenadante ficasse claro ou então centrifugava-se.

Pipetava-se, em seguida, 1 ml do hidrolizado para um tubo já contendo 4,0 ml do reagente C, agitando-se a mistura, colocando em se-

guida numa estufa a 65°C por 15 minutos para desenvolvimento de cor.

Após resfriamento adequado, transferia-se a solução para tu bos do colorímetro, cuja leitura era feita a 545 nanômetros no aparelho tipo "Spectronic 20".

Paralelamente, preparava-se uma curva padrão cujos limites compreendiam 0 a 40 µg/ml de DL triptofano.

O conteúdo em triptofano da amostra foi calculado a partir da curva padrão e dado na base de proteína calculada. Portanto:

$$\% \text{ Try} = \frac{\text{DO} \times \text{F}}{\text{peso}}$$

onde: % Try = porcentagem em triptofano;

D.O. = valor obtido no colorímetro;

F = obtido a partir da curva padrão.

Para estimativas do valor da porcentagem de triptofano na proteína, emprega-se a equação:

$$\% \text{ Try}/100 \text{ g Prot.} = \frac{\% \text{ Try}}{\% \text{ Prot}} \times 100$$

F I G U R A S

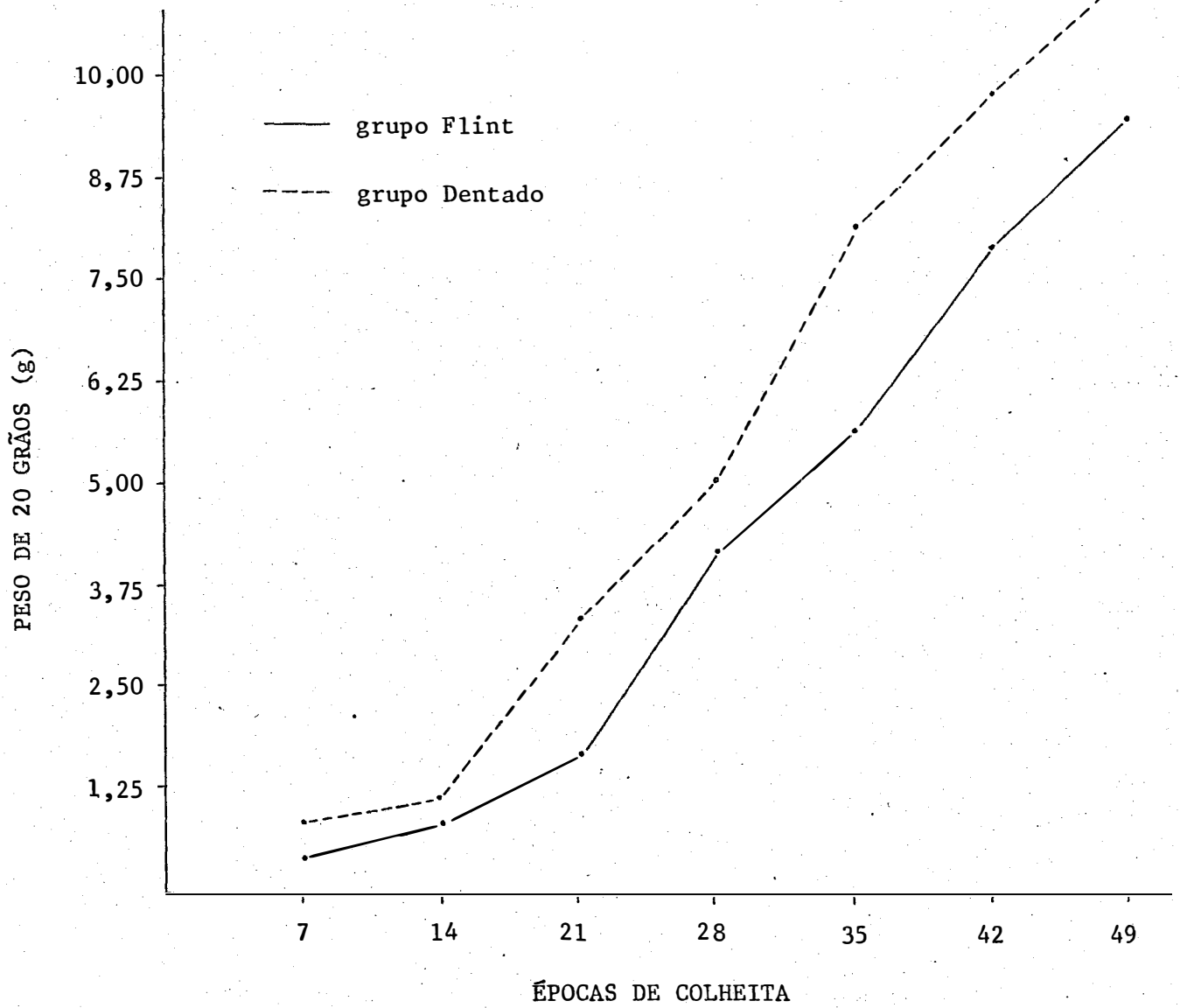


FIGURA 1 - Acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado.

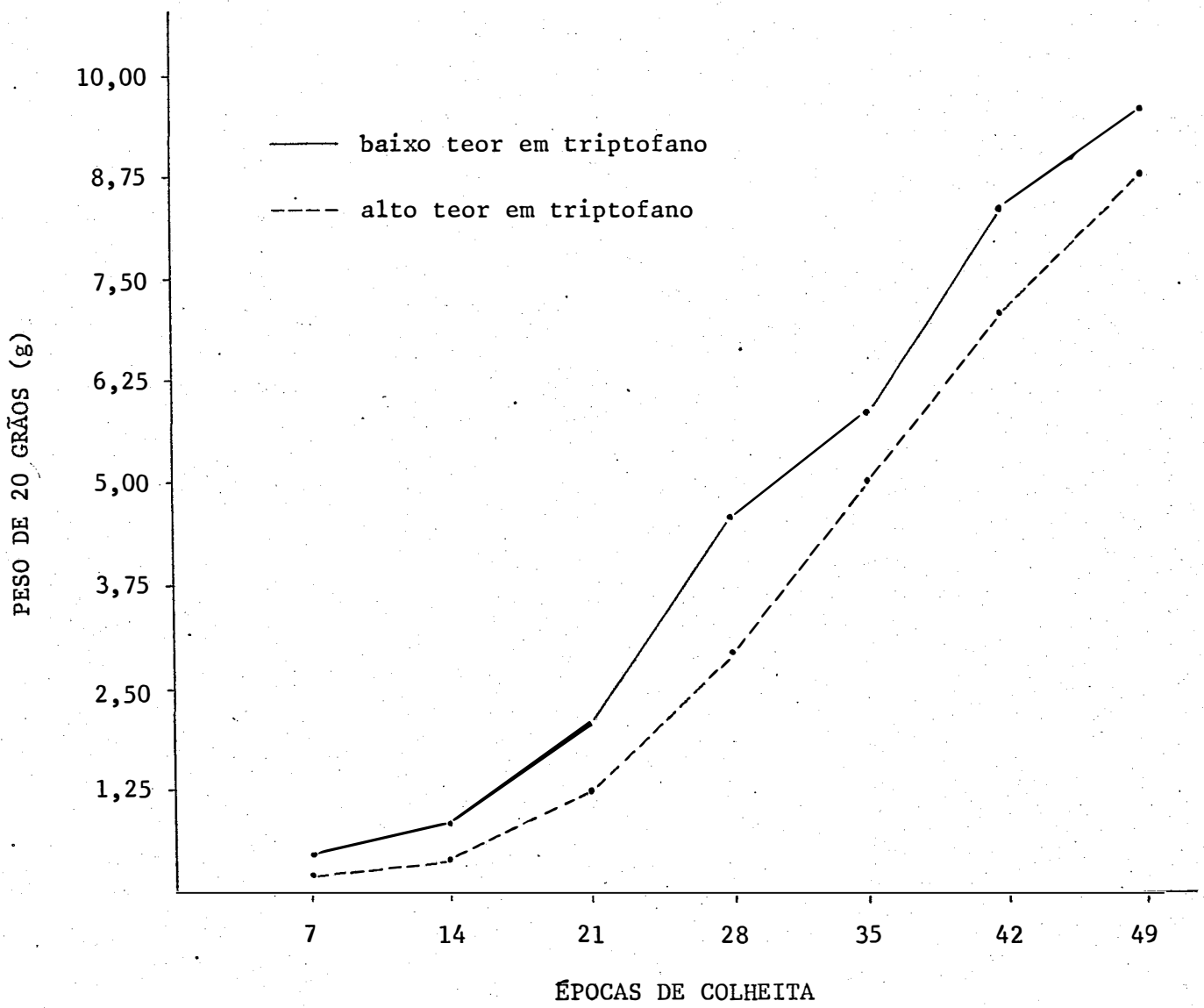


FIGURA 2 - Acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do endosperma tipo Flint.

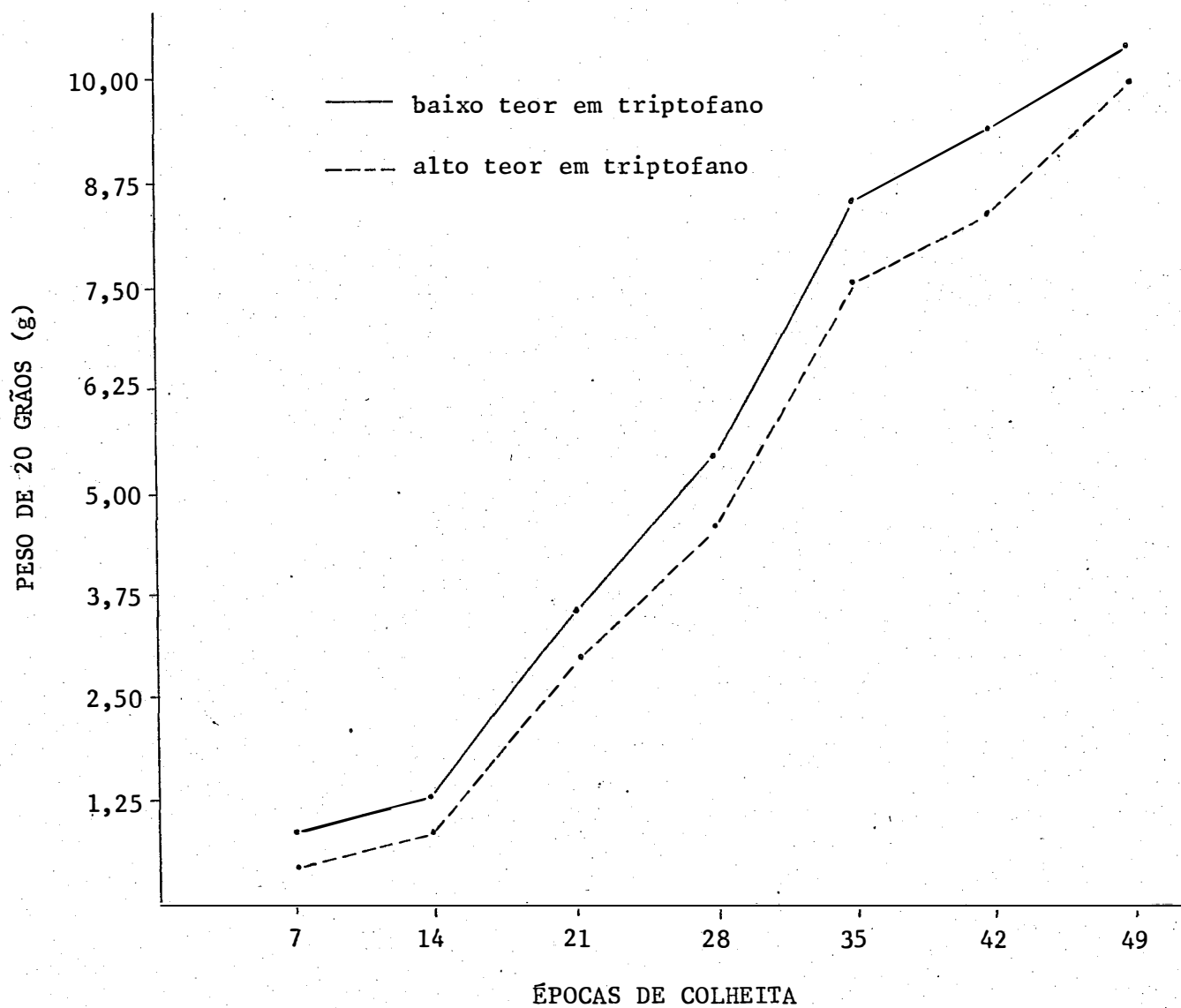


FIGURA 3 - Acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do endosperma tipo Dentado.

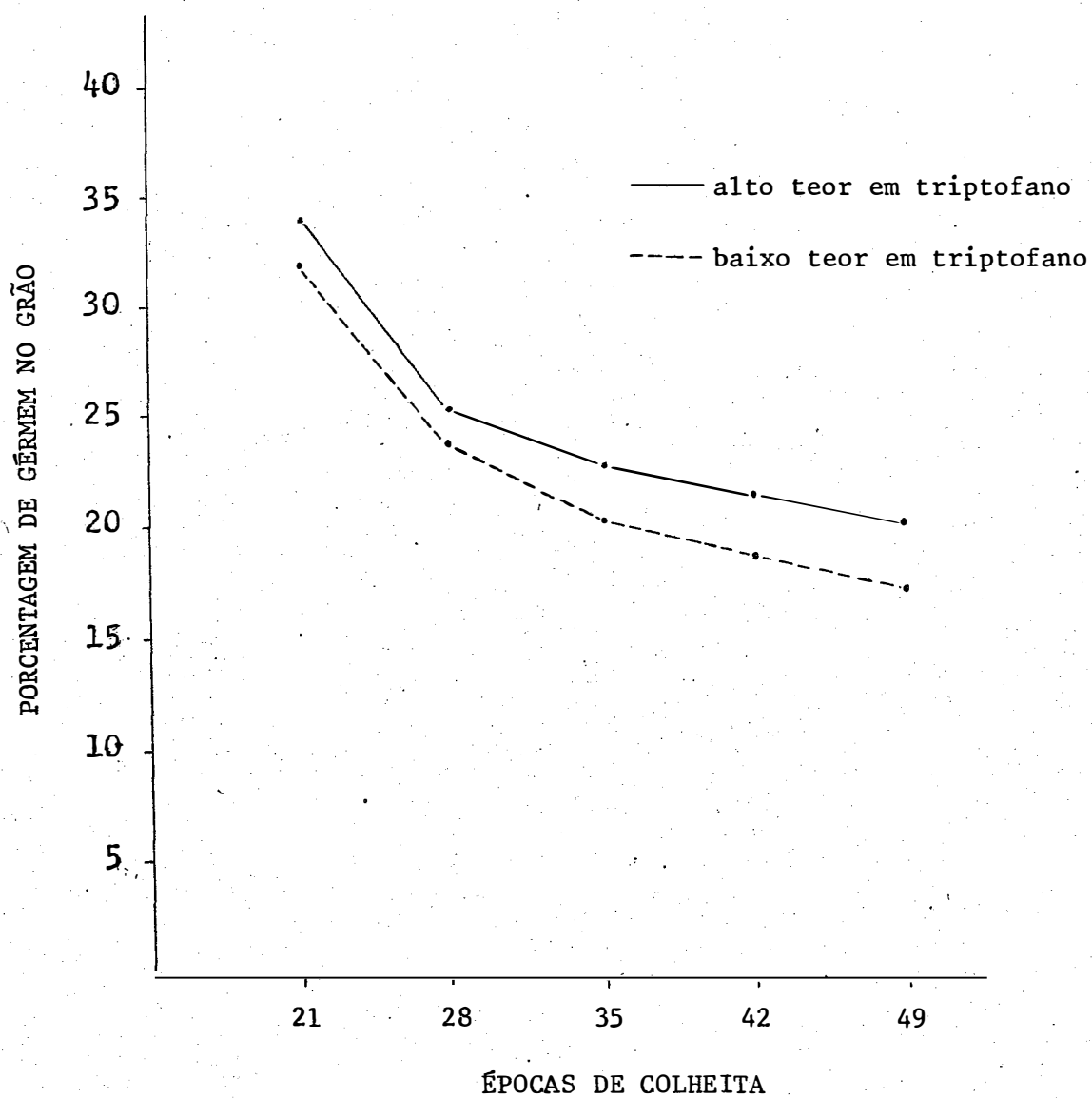


FIGURA 4 - Porcentagem de germem no grão em material Flint, durante o desenvolvimento do endosperma.

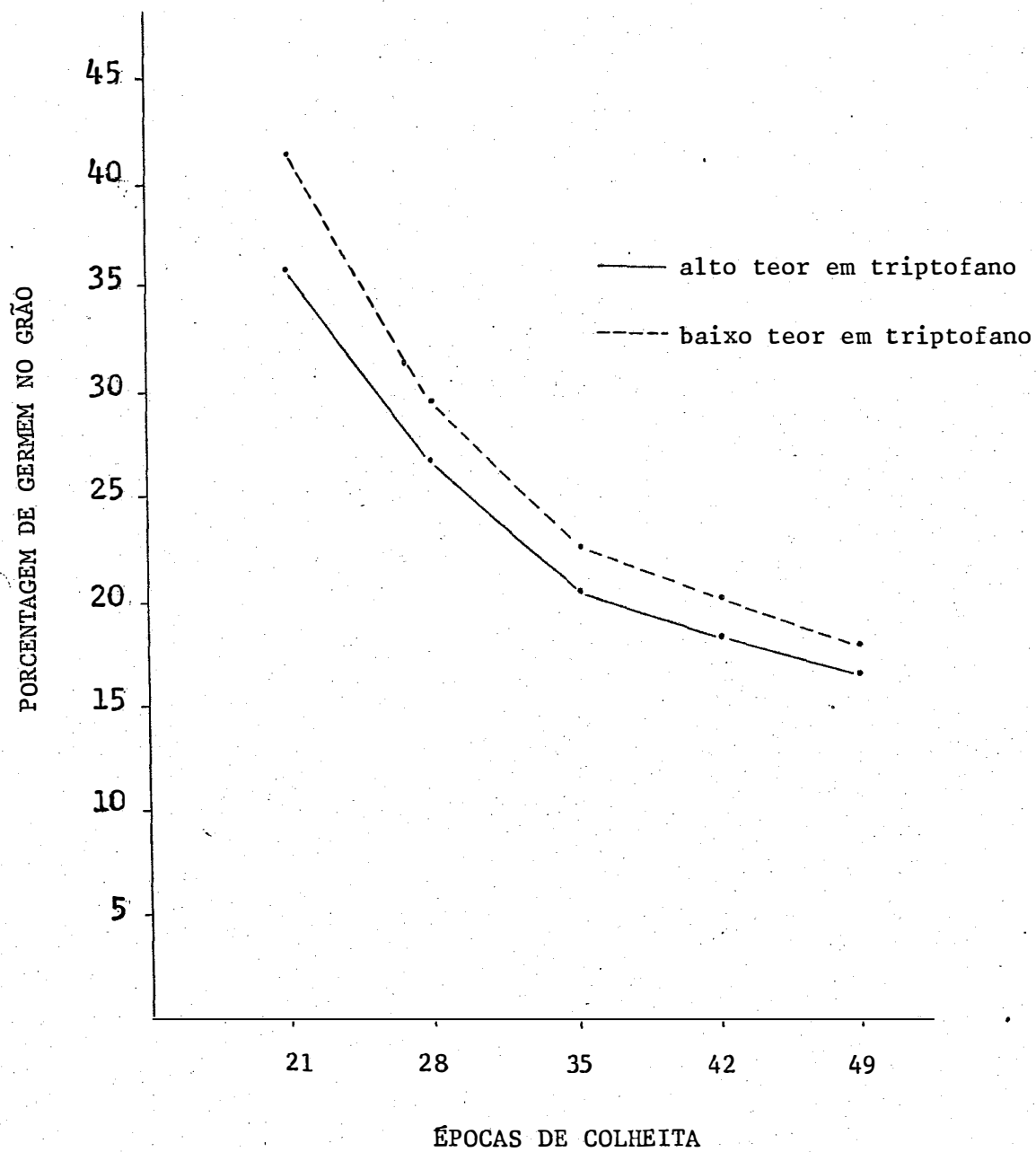


FIGURA 5 - Porcentagem de germem no grão em material Dentado, durante o desenvolvimento do endosperma.

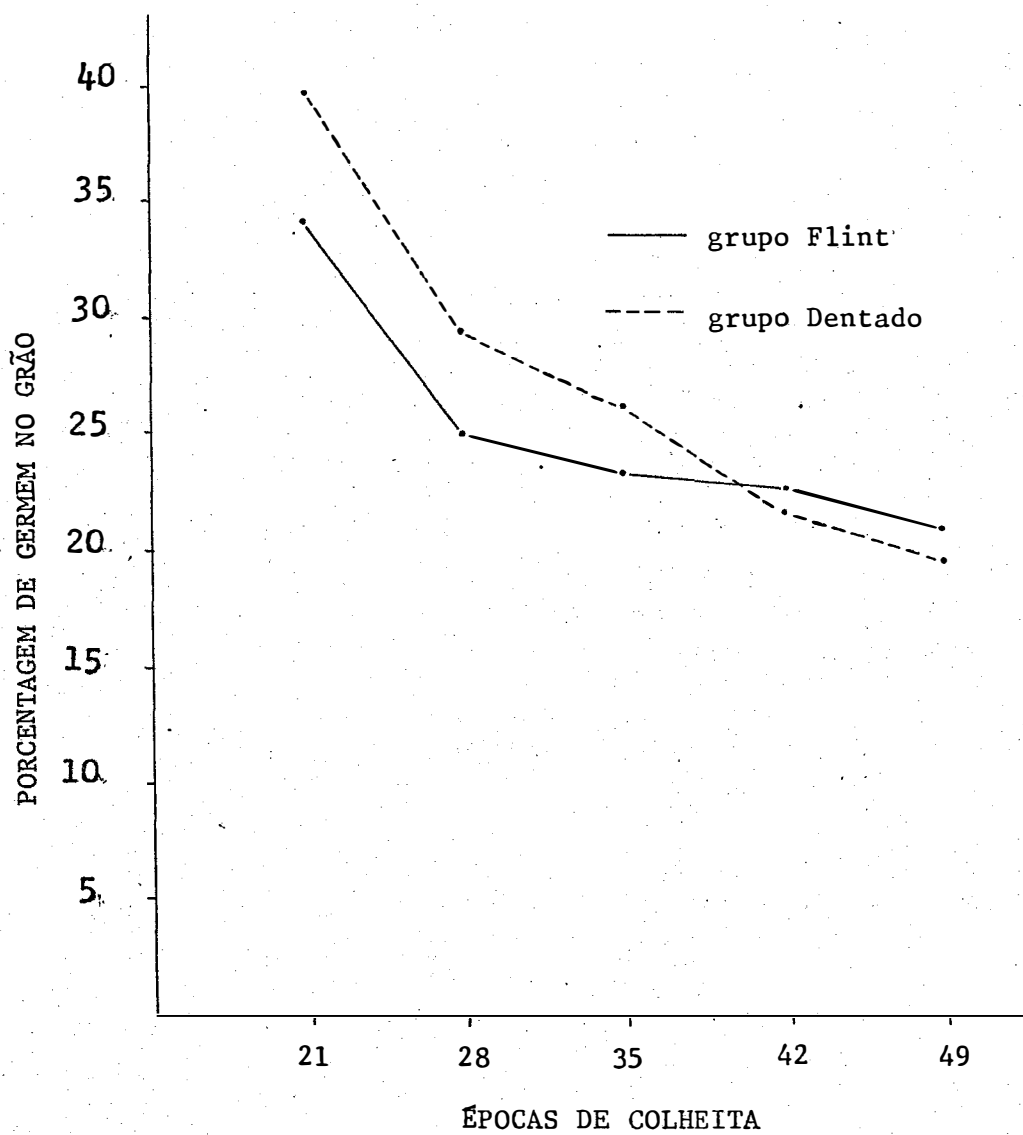


FIGURA 6 - Porcentagem de germem no grão em material Flint e Dentado, durante o desenvolvimento do endosperma.

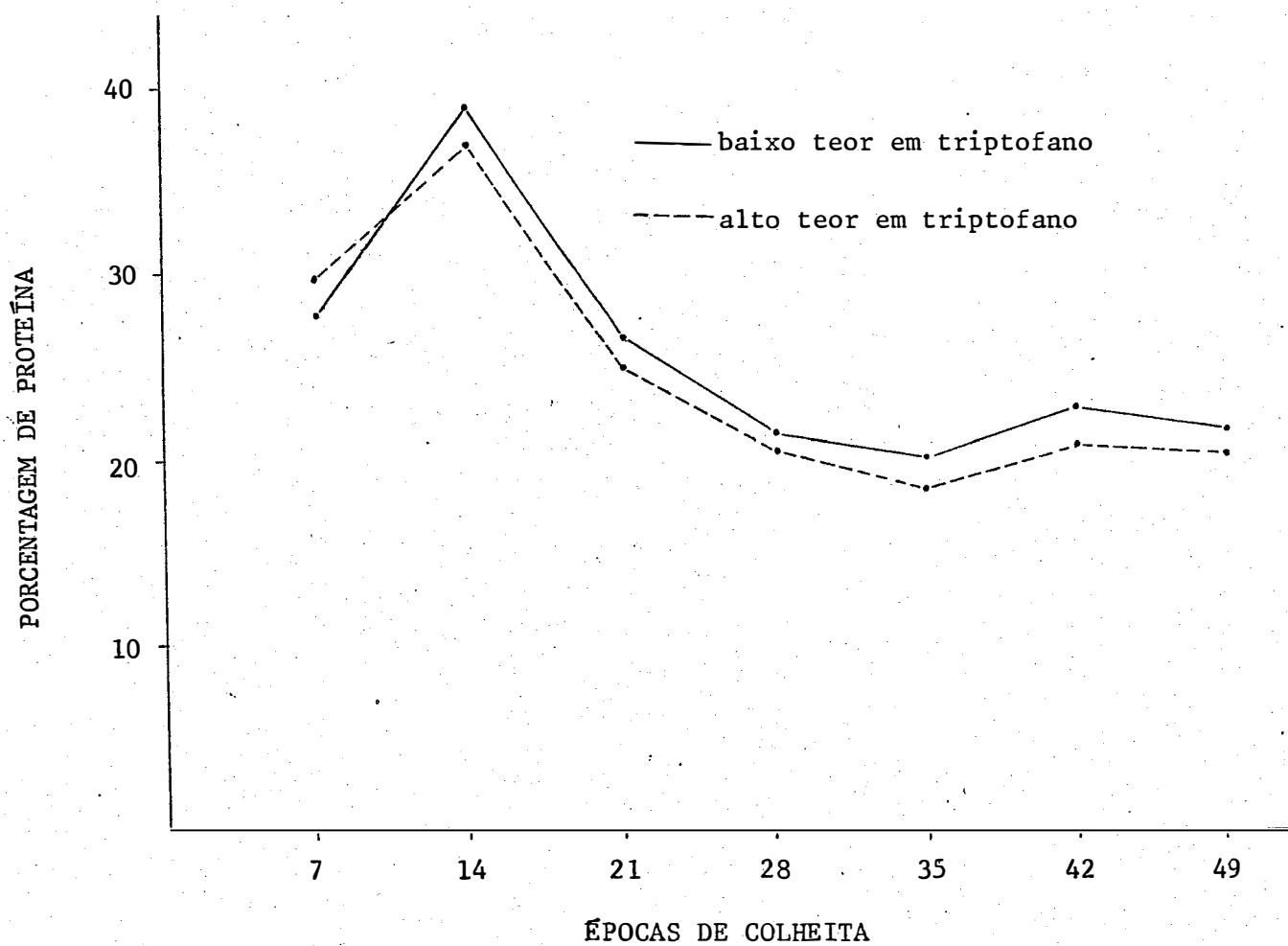


FIGURA 7 - Acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma tipo Flint.

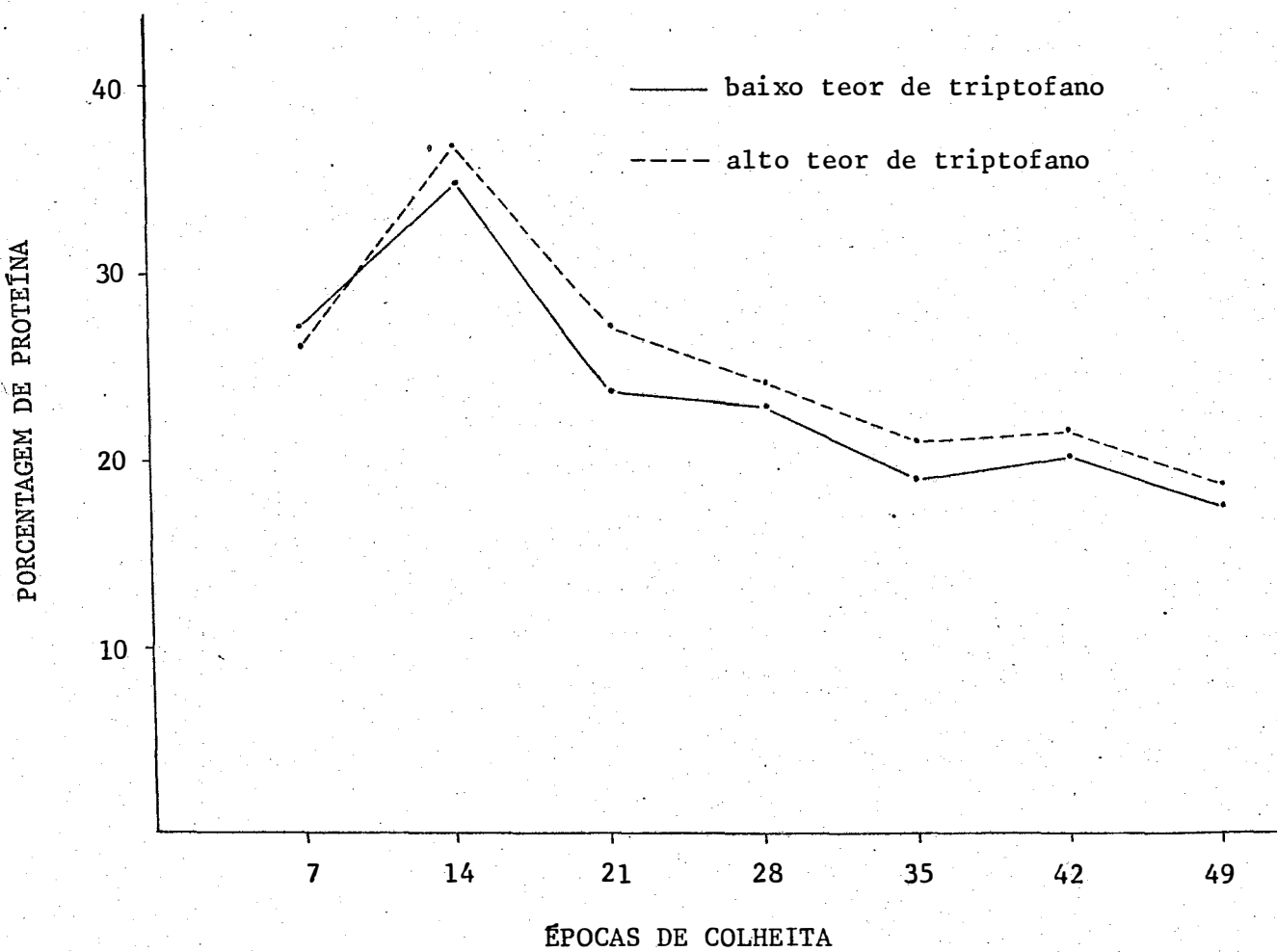


FIGURA 8 - Acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma tipo Dentado.

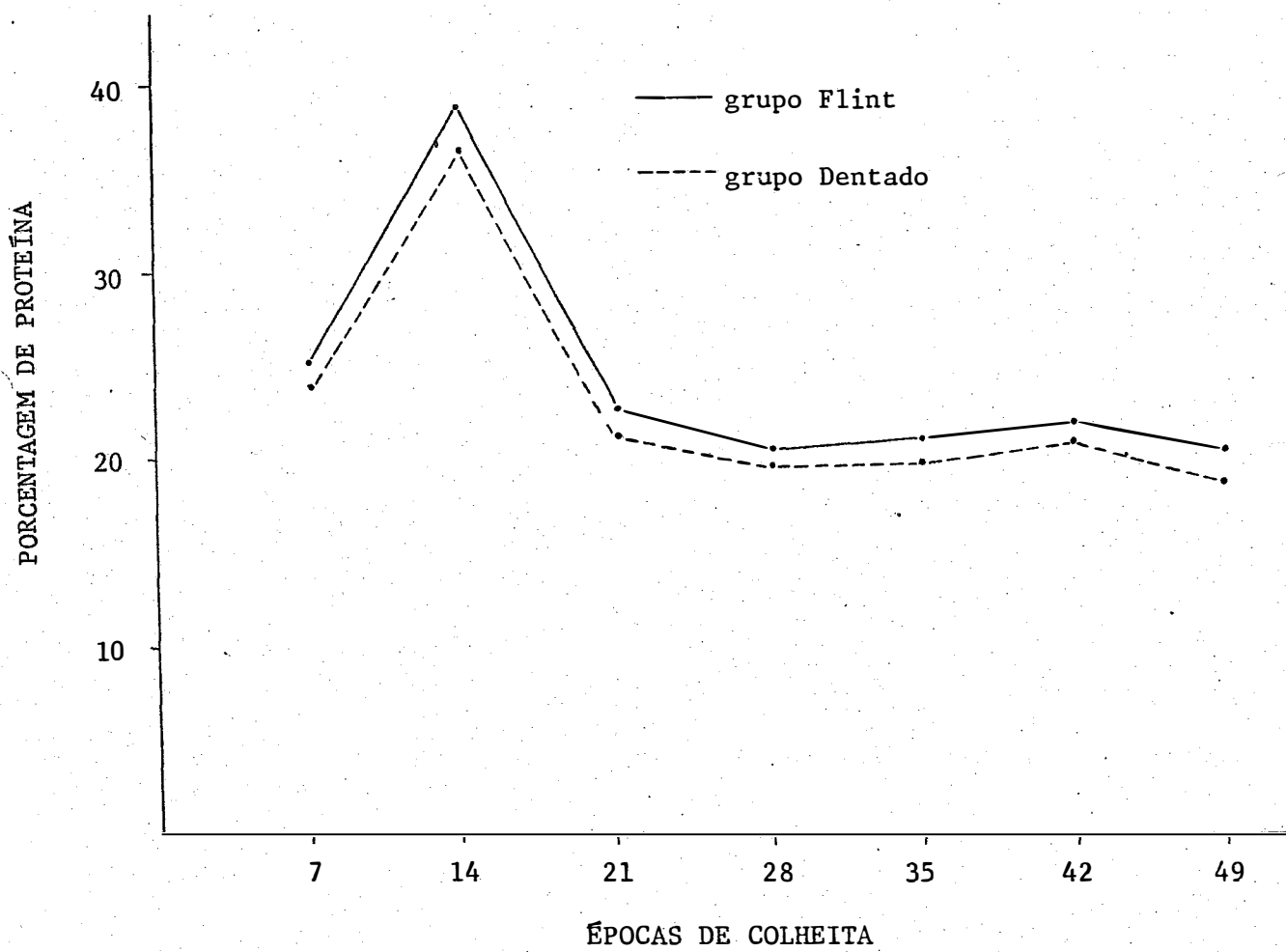


FIGURA 9 - Acúmulo de proteína durante o desenvolvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado.

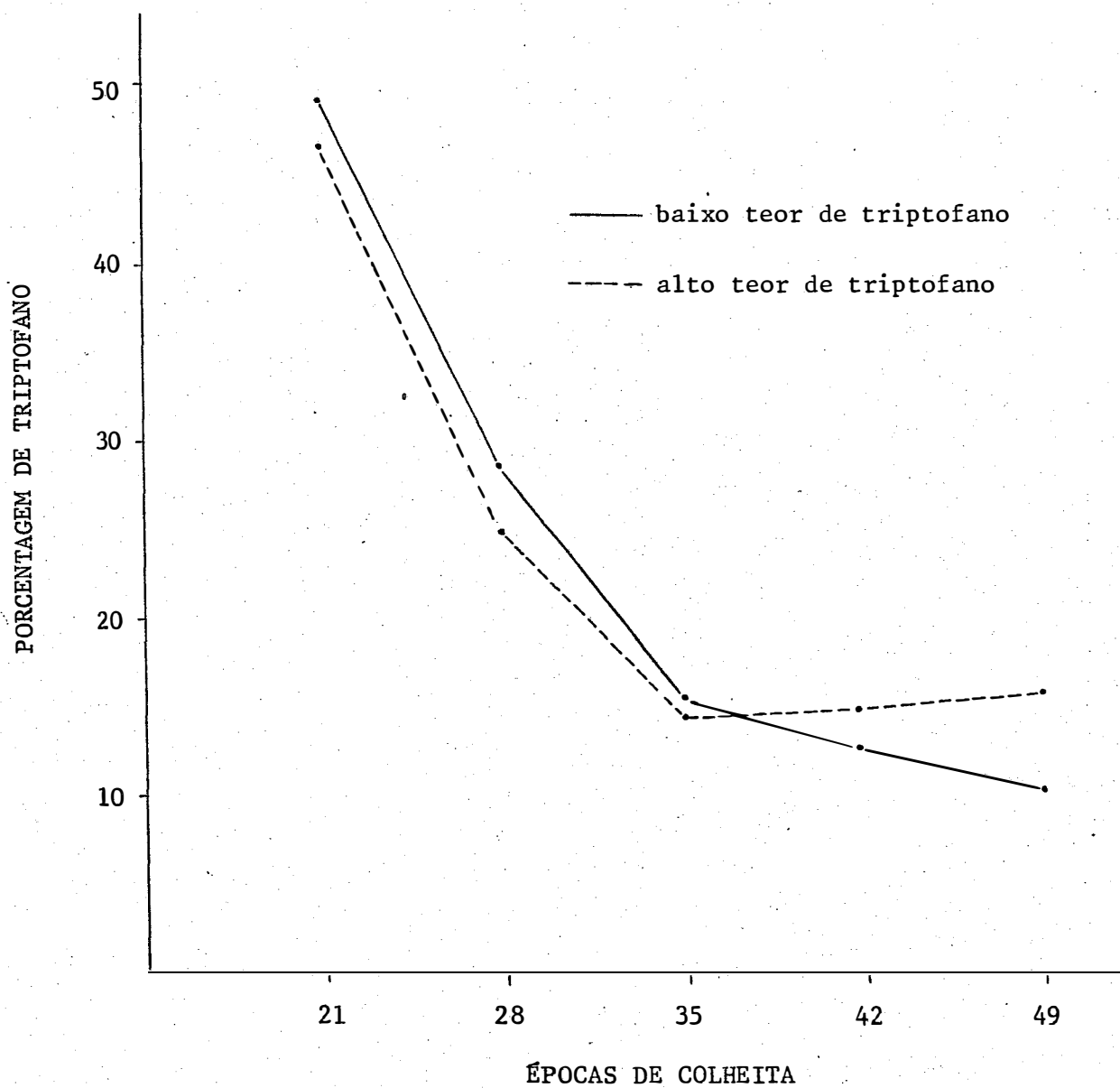


FIGURA 10 Porcentagem de triptofano durante o desenvolvimento do endosperma tipo Flint.

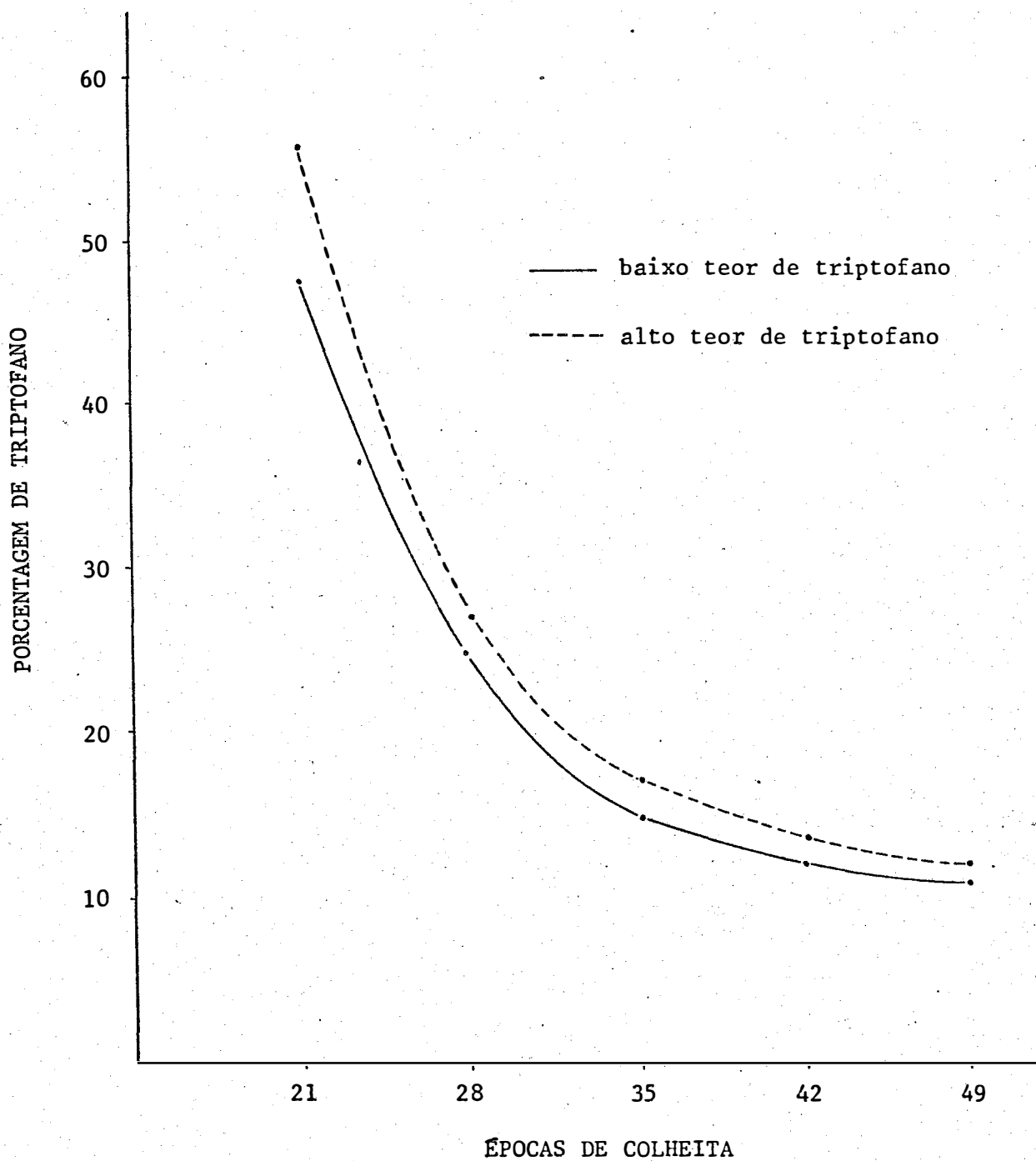


FIGURA 11 - Porcentagem de triptofano durante o desenvolvimento do endosperma tipo Dentado.

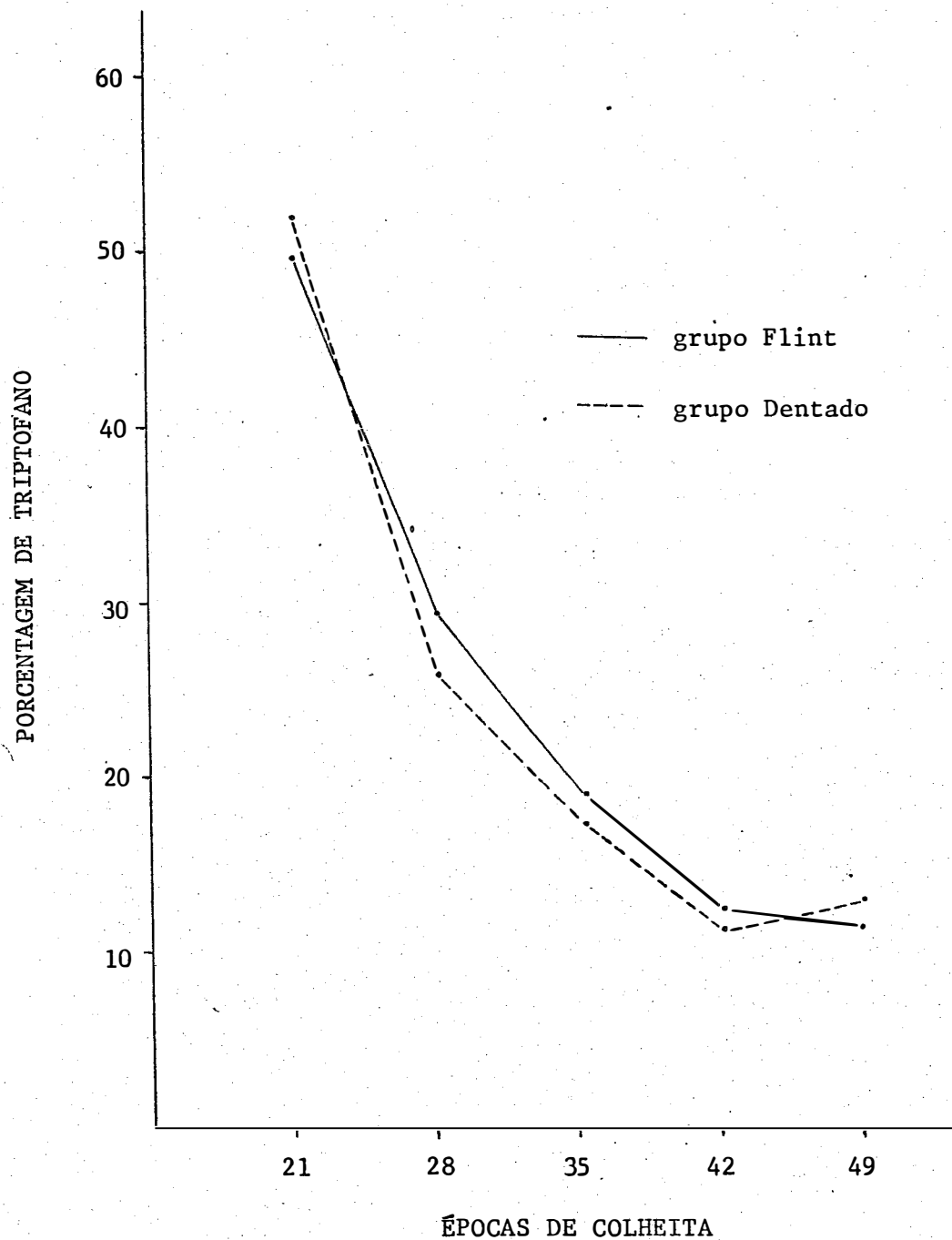


FIGURA 12 - Porcentagem de triptofano durante o desenvolvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado.

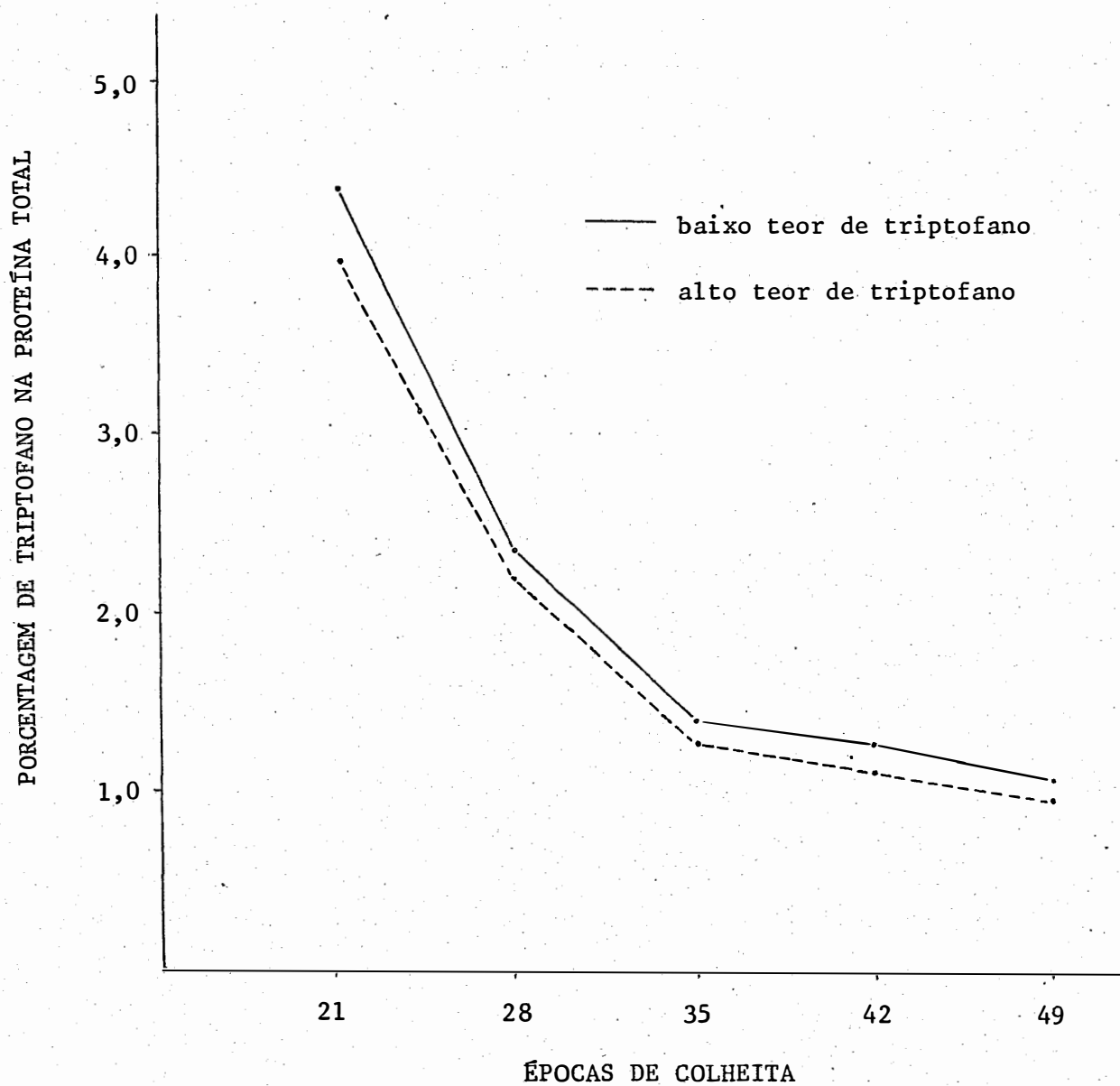


FIGURA 13 - Porcentagem de triptofano na proteína total, durante o desenvolvimento do endosperma tipo Flint.

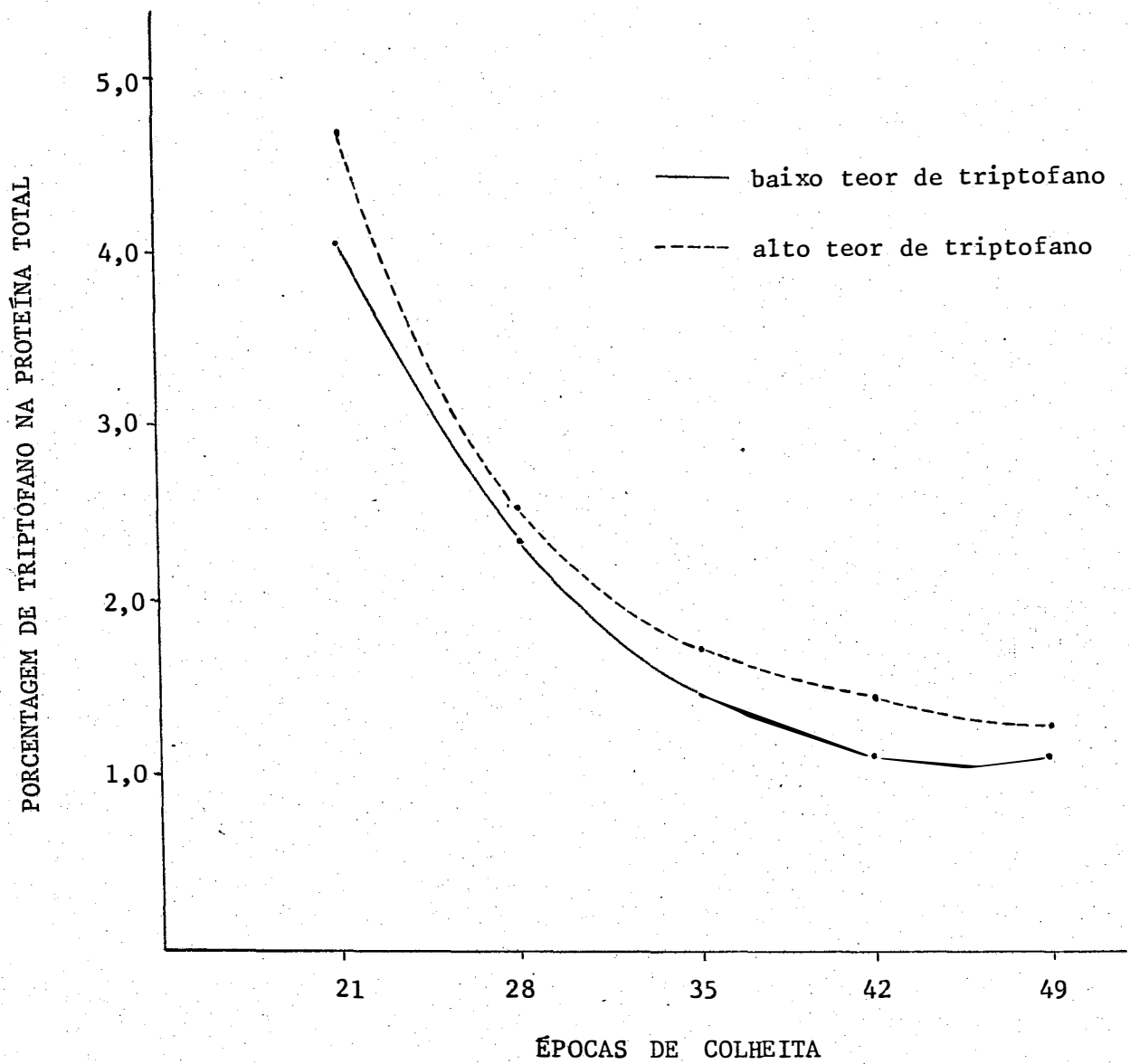


FIGURA 14 - Porcentagem de triptofano na proteína total, durante o desenvolvimento do endosperma tipo Dentado..

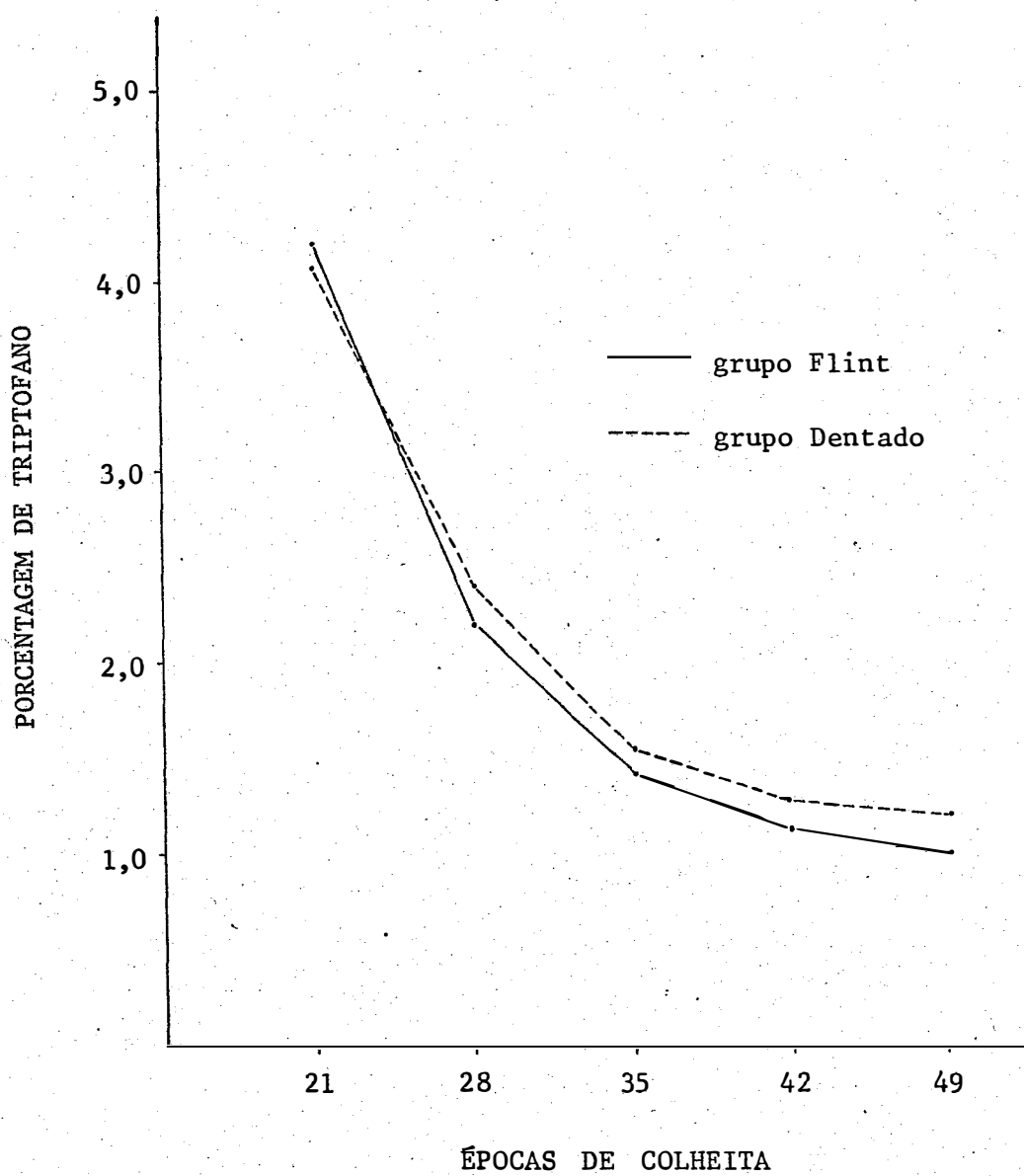


FIGURA 15 - Acúmulo de triptofano na proteína total, durante o desenvolvimento do endosperma nos grupos Flint e Dentado.

T A B E L A S

TABELA 5 - Peso médio de 20 grãos, para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênes S₂ pertencentes aos Compostos Dentado e Flint (gramas).

Linha	DAP (D ₁)							DAP (D ₂)							DAP (D ₃)							
	7	14	21	28	35	42	49	7	14	21	28	35	42	49	7	14	21	28	35	42	49	
Composto Flint	alto try	0,40	0,58	2,18	3,28	5,27	8,14	8,61	0,25	0,58	1,99	4,46	6,00	7,09	7,87	0,42	0,52	2,48	3,79	4,93	9,52	10,85
	baixo try	0,73	0,97	2,56	5,24	7,44	8,87	11,76	0,75	0,83	2,21	2,46	5,20	9,45	10,71	0,76	0,80	2,35	4,08	5,60	6,07	8,15
Composto Dentado	alto try	0,55	0,94	2,47	5,30	5,92	6,69	7,36	0,56	0,91	1,89	3,24	5,60	7,90	8,78	0,48	0,65	1,81	3,83	4,75	6,28	9,98
	baixo try	0,42	0,93	1,96	4,58	6,35	9,39	11,80	0,28	0,79	2,48	3,87	5,41	6,50	7,33	0,30	0,66	1,87	3,37	5,05	6,22	10,54
Composto Dentado	alto try	0,56	1,01	3,03	5,04	7,21	9,21	13,31	0,40	1,01	1,79	5,63	7,78	8,89	12,58	0,40	0,83	3,12	4,11	7,26	9,14	10,84
	baixo try	0,62	0,95	2,73	4,29	8,33	9,92	12,12	0,69	1,04	2,14	4,80	7,87	10,64	11,33	0,56	0,87	3,54	5,30	7,49	10,56	12,80
Composto Dentado	alto try	0,44	1,12	3,48	6,21	10,29	11,87	12,77	0,53	0,75	3,70	6,57	8,81	10,64	12,31	0,57	0,79	2,77	6,10	8,45	9,54	13,21
	baixo try	0,72	0,93	2,00	4,74	7,81	9,80	10,34	0,67	0,85	1,97	5,26	7,52	9,57	11,11	0,46	0,66	1,94	2,92	4,39	6,81	11,03

LEGENDA: DAP = dias após polinização

D₁ = densidade de 100.000 plantas/ha

D₂ = densidade de 75.000 plantas/ha

D₃ = densidade de 50.000 plantas/ha

alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

linha = progênes S₂

TABELA 6 - Análise da variância para peso de 20 grãos, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso com duas repetições.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	0,311
Tratamento (A)	2	6,403**
Resíduo (a)	2	0,053
Parcelas	5	2,644
Tratamento (B)	7	23,657**
A x B	14	2,516**
Resíduo (b)	21	0,038
Sub-parcelas	42	4,801
Tratamento (C)	6	747,312**
A x C	12	1,665**
B x C	42	2,624**
A x B x C	84	1,202**
Resíduo (c)	144	0,064
Total	335	

onde: A = densidades de plantio; B = linhagens; C = épocas de colheita.

** = significativo pelo Teste "F" (P = 1%).

TABELA 7 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para peso de 20 grãos, obtidos de progênies S₂ dos compostos Dentado e Flint (gramas).

Tratamentos		Médias	Flint (F)	Dentado (d)	F (baixo try)	F (alto try)	D (baixo try)	D (alto try)
Densidade de Plantio (A)	D 1	5,172	4,658	5,685	4,698	4,618	5,485	5,885
	D 2	4,912	4,186	5,637	4,321	4,052	5,507	5,766
	D 3	4,694	4,162	5,225	4,306	4,019	4,964	5,487
Linhagens (B)	L 1	4,224			4,442			
	L 2	4,660						
	L 3	4,141						
	L 4	4,319				4,230		
	L 5	5,319						
	L 6	5,668					5,493	
	L 7	6,223						
	L 8	4,854						5,538
Época de Colheita (C)	7 DAP	0,536	0,511	0,562	0,550	0,473	0,552	0,573
	14 DAP	0,832	0,763	0,902	0,809	0,717	0,850	0,954
	21 DAP	2,456	2,211	2,700	2,283	2,140	2,652	2,748
	28 DAP	4,553	4,015	5,091	4,074	3,956	4,862	5,321
	35 DAP	6,721	5,691	7,751	5,840	5,541	7,666	7,836
	42 DAP	8,594	7,637	9,551	8,105	7,169	9,451	9,651
	49 DAP	10,793	9,533	12,053	9,638	9,428	11,885	12,222

LEGENDA: alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

TABELA 8 - Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o caracter peso de 20 grãos (g).

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Linhagens (B)	7	165,5990	
E. Tipos	1	122,1630	122,1630**
E. Teores	1	0,7114	0,7114*
Tipos x Teores	1	1,0971	0,0971**
Linh./Categoria	4	41,6275	10,4069**
Resíduo (b)	21		0,0380
A x B	14	35,2240	
Tipos x Densid.	2	2,7322	1,3661**
Teor x Densid.	2	4,2582	2,1291**
(Tipos x Teor) x Densid.	2	2,2785	1,1393**
Linh./Cat. x Densid.	8	25,9551	3,2444**
Resíduo (b)	21		0,0380
B x C	42	110,2080	
Tipos x Épocas	6	74,9637	12,4940**
Teor x Épocas	6	4,0689	0,6782**
(Tipos x Teor) x Época	6	2,9766	0,4961**
Linh./Cat. x Época	24	28,1988	1,1750**
Resíduo (c)	144		

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 4,9260

C.V. = 5,136

TABELA 9 - Peso médio de 20 endospermas para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S_2 , pertencentes ao composto Dentado e Flint (gramas).

		Linha	DAP (D_1)					DAP (D_2)					DAP (D_3)				
			21	28	35	42	49	21	28	35	42	49	21	28	35	42	49
Composto Flint	baixo try	L 1	1,38	2,08	3,67	6,30	6,61	1,30	3,62	4,96	5,82	6,42	1,66	2,76	3,69	8,10	9,26
		L 2	1,92	4,42	6,28	7,63	8,96	1,45	1,60	4,17	6,43	7,20	1,61	3,22	4,49	4,75	6,02
	alto try	L 3	1,80	4,14	4,61	5,29	5,88	1,30	2,18	4,33	6,44	7,18	1,08	2,91	3,69	5,02	8,00
		L 4	1,27	3,62	5,29	8,14	10,37	1,71	2,96	4,35	5,18	5,91	1,18	2,44	3,94	4,59	8,00
Composto Dentado	baixo try	L 5	2,01	3,76	5,72	7,55	11,43	0,98	4,27	6,46	7,21	10,62	1,91	2,65	5,56	7,28	8,72
		L 6	1,75	3,03	6,93	8,26	10,22	1,13	3,47	6,43	8,62	8,35	2,10	3,62	5,70	8,65	10,23
	alto try	L 7	2,23	4,70	8,59	10,01	10,73	2,35	5,10	6,91	8,62	9,71	1,45	4,50	6,71	7,58	10,67
		L 8	0,95	3,36	6,21	8,40	8,58	1,01	4,02	6,10	8,01	9,49	1,22	1,36	2,94	4,95	8,33

LEGENDA: DAP = dias após polinização

D_1 = densidade de 100.000 plantas/ha

D_2 = densidade de 75.000 plantas/ha

D_3 = densidade de 50.000 plantas/ha

alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

linha = progênies S_2

TABELA 10 - Análise da variância para peso de 20 endospermas + pericarpo, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso, com duas repetições.

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	0,000
Tratamento (A)	2	11,971**
Resíduo (a)	2	0,014
Parcelas	5	4,794
Tratamento (B)	7	20,621**
A x B	14	3,790**
Resíduo (b)	21	0,035
Sub-parcelas	42	4,718
Tratamento (C)	4	388,104**
A x C	8	2,051**
B x C	28	1,938**
A x B x C	56	1,319**
Resíduo (c)	96	0,027
Total	239	

Onde: A = densidade de plantio; B = linhagens; C = épocas de colheita.

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%).

TABELA 11 - Médias referentes ao tratamento: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para peso de 20 endospermas, obtidas de progênies S₂ dos compostos Dentado e Flint (gramas).

Tratamentos	Médias	Flint (F)	Dentado (D)	F (baixo try)	F (alto try)	D (baixo try)	D (alto try)
Densidade de Plantio (A)	D 1	5,586	4,692	6,209			
	D 2	5,090	4,242	5,935			
	D 3	4,823	4,366	5,280			
Linhagens (B)	L 1	4,458			4,561		
	L 2	4,665					
	L 3	4,331				4,336	
	L 4	4,342					
	L 5	5,734					
	L 6	5,896					5,815
	L 7	6,646					
	L 8	5,960					
Época de Colheita (C)	7 DAP	não determinado					
	14 DAP	não determinado					
	21 DAP	1,535					
	28 DAP	3,303					
	35 DAP	5,311					
	42 DAP	7,020					
	49 DAP	8,730	7,714	9,747			

LEGENDA: alto try = alto teor de triptofano
baixo try = baixo teor de triptofano

TABELA 12 - Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o caracter peso de 20 endospermas.

Fonte de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Linhagens (B)	7	144,3470	
E. Tipos	1	100,2980	100,2980**
E. Teores	1	0,0760	0,0760*
Tipos x Teores	1	0,0980	0,0980*
Linh./Categoria	4	43,8750	10,9688**
Resíduo (b)	21		
A x B	14	53,0600	
Tipos x Densidade	2	6,5016	3,2508**
Teor x Densidade	2	6,9901	3,4951**
(Tipo x Teor) x Densidade	2	1,1100	0,5550**
Linh./Cat. x Densidade	8	38,4583	4,8073**
Resíduo (b)	21		
B x C	28	54,2640	0,0350
Tipos x Épocas	4	36,2124	9,0531**
Teores x Épocas	4	2,4413	1,2207**
(Tipo x Teor) x Épocas	4	2,8501	0,7125**
Linh./Cat. x Época	16	12,7602	0,7975**
Resíduo (c)	96		

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 5,1665

C.V. = 3,270

TABELA 13 - Peso médio de 20 germens para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênes S₂ pertencentes ao Composto Dentado e Flint (gramas).

		Linha	DAP (D ₁)					DAP (D ₂)					DAP (D ₃)				
			21	28	35	42	49	21	28	35	42	49	21	28	35	42	49
			Composto Flint	baixo try	L 1	0,80	1,20	1,60	1,84	2,00	0,69	0,84	1,04	1,27	1,45	0,82	1,03
L 2	0,64	0,82			1,16	1,24	1,80	0,76	0,86	1,03	3,02	3,51	0,74	0,86	1,11	1,32	2,13
alto try	L 3	0,67		1,16	1,31	1,40	1,48	0,59	1,06	1,27	1,46	1,60	0,73	0,92	1,06	1,26	1,98
	L 4	0,69		0,96	1,06	1,25	1,43	0,77	0,91	1,06	1,24	1,42	0,69	0,93	1,06	1,63	1,98
Composto Dentado	baixo try	L 5	1,02	1,28	1,49	1,66	1,88	0,81	1,36	1,52	1,68	1,96	1,21	1,46	1,70	1,86	2,12
		L 6	0,98	1,26	1,40	1,66	1,83	1,01	1,33	1,44	2,02	1,78	1,44	1,68	1,79	1,91	2,57
	alto try	L 7	1,25	1,51	1,70	1,86	2,04	1,35	1,65	1,90	2,02	2,60	1,32	1,60	1,74	1,96	2,54
		L 8	1,05	1,38	1,60	1,40	1,76	0,96	1,24	1,42	1,58	1,62	0,67	1,56	1,45	1,86	2,70

LEGENDA: DAP = dias após polinização

D₁ = densidade de 100.000 plantas/ha

D₂ = densidade de 75.000 plantas/ha

D₃ = densidade de 50.000 plantas/ha

alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

TABELA 14 - Análise da variância para peso de 20 germens, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso, com duas repetições.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	0,064
Tratamento (A)	2	0,259*
Resíduo (a)	2	0,010
Parcelas	5	0,120
Tratamento (B)	7	1,580**
A x B	14	0,386**
Resíduo (b)	21	0,011
Sub-parcelas	42	0,398
Tratamento (C)	4	8,897**
A x C	8	0,132**
B x C	28	0,171**
A x B x C	56	0,101**
Resíduo (c)	96	0,008
Total	239	

onde: A = densidade de plantio; B = linhagens; C = épocas de colheita

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

TABELA 15 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para peso de 20 embriões, obtidos de progênes S₂ dos compostos Dentado e Flint (gramas).

Tratamentos		Médias	Flint (F)	Dentado (D)	F (baixo try)	F (alto try)	D (baixo try)	D (alto try)
Densidade de Plantio (A)	D 1	1,390	1,253	1,525				
	D 2	1,433	1,289	1,576				
	D 3	1,503	1,233	1,772				
Linhagens (B)	L 1	1,226			1,187			
	L 2	1,149						
	L 3	1,230				1,330		
	L 4	1,430						
	L 5	1,816					1,663	
	L 6	1,511						
	L 7	1,536						1,586
	L 8	1,636						
Época de colheita (C)	7 DAP	não determinado						
	14 DAP	não determinado						
	21 DAP	0,912	0,717	1,107				
	28 DAP	1,208						
	35 DAP	1,388						
	42 DAP	1,665						
	49 DAP	2,037	1,911	2,161				

LEGENDA: alto try = alto teor de triptofano
baixo try = baixo teor de triptofano

TABELA 16 - Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o caráter peso de 20 gérmenes.

Fonte de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Linhagens (B)	7	11,0600	1,5800
E. Tipos	1	8,0446	8,0446**
E. Teores	1	0,0627	0,0627*
Tipos x Teores	1	0,3554	0,3554**
Linh./Categoria	4	2,5973	0,6493**
Resíduo (b)	21		0,0110
A x B	14	5,4040	
Tipos x Densidade	2	1,3790	0,6895**
Teores x Densidade	2	0,9722	0,4861**
(Tipos x Teores) x Densidade	2	1,3790	0,6895**
Linh./Categoria x Densidade	8	1,6738	0,2092**
Resíduo (b)	21		0,0110
B x C	28	4,7880	
Tipos x Épocas	4	0,4834	0,1209**
Teores x Épocas	4	0,3506	0,0877**
(Tipos x Teores) x Épocas	4	1,1886	0,2972**
Linh./Categoria x Época	16	2,7654	0,1728**
Resíduo (c)	96		0,0080

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 1,442

C.V. = 6,2%

TABELA 17 - Porcentagem média de germem no grão, para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S₂ pertencentes ao Composto Dentado e Flint.

	linha	DAP (D ₁)					DAP (D ₂)					DAP (D ₃)				
		21	28	35	42	49	21	28	35	42	49	21	28	35	42	49
Composto Flint alto try baixo try	L 1	36,69	36,58	30,36	22,60	23,22	34,67	18,83	17,33	17,91	18,42	33,06	27,17	25,15	14,91	14,65
	L 2	25,00	15,64	15,59	13,97	16,72	34,38	34,95	19,80	31,95	32,77	31,48	21,07	19,82	21,74	26,13
	L 3	27,12	21,88	22,12	20,92	20,10	31,21	32,71	22,67	18,48	18,22	40,33	24,02	22,31	20,06	19,83
	L 4	35,20	20,96	16,69	13,31	12,11	31,04	23,51	19,59	19,31	19,37	36,89	27,59	21,20	26,20	19,83
Composto Dentado alto try baixo try	L 5	33,66	25,39	20,66	18,02	14,12	45,25	24,15	19,04	18,89	15,58	38,78	35,52	23,41	20,35	19,55
	L 6	35,89	29,37	16,80	16,73	15,18	47,19	27,70	18,29	18,98	17,57	40,67	31,69	23,89	18,08	20,07
	L 7	35,91	24,31	16,52	15,66	15,97	36,48	24,44	21,56	18,98	21,12	47,65	26,22	20,59	20,54	19,22
	L 8	47,50	29,11	20,48	14,28	17,02	48,73	23,57	18,88	16,30	14,58	35,44	53,42	33,02	27,31	24,47

LEGENDA: DAP = dias após polinização

D₁ = densidade de 100.000 plantas/ha

D₂ = densidade de 75.000 plantas/ha

D₃ = densidade de 50.000 plantas/ha

alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

linha = progênies S₂

TABELA 18 - Análise da variância para porcentagem de germem no grão, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso, com duas repetições.

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	16,229
Tratamento (A)	2	904,940
Resíduo (a)	2	95,036
Parcelas	5	403,236
Tratamento (B)	7	245,267**
A x B	14	444,450**
Resíduo (b)	21	32,825
Sub-parcelas	42	205,440
Tratamento (C)	4	10240,511**
A x C	8	49,920*
B x C	28	247,308**
A x B x C	56	120,771**
Resíduo (c)	96	42,258
Total	239	

onde: A = densidade de plantio; B = linhagens; C = épocas de colheita.

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 49,259

C.V. = 13,19%

TABELA 19 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcentagem de embrião no grão.

Tratamentos	Médias	Flint (F)	Dentado (D)	(baixo try) ^F	(alto try) ^F	(baixo try) ^D	(alto try) ^D
Densidade de plantio (A)	D 1	22,730	22,339	23,129			
	D 2	24,860	24,856	24,864			
	D 3	26,830	24,672	28,994			
Linhagem (B)	L 1	24,130			23,490		
	L 2	22,850					
	L 3	24,770					
	L 4	24,060				24,415	
	L 5	24,340					
	L 6	28,270					26,305
	L 7	24,820					
	L 8	25,200					25,010
Época de colheita (C)	7 DAP	não determinado					
	14 DAP	não determinado					
	21 DAP	37,090	33,089	41,075			
	28 DAP	27,490					
	35 DAP	21,070					
	42 DAP	19,390					
	49 DAP	18,990	20,114	17,870			

LEGENDA: alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

TABELA 20 - Porcentagem média de proteína no endosperma, para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidos de 8 progênies S₂ pertencentes ao composto Dentado e Flint.

Composto	Flint	Linha	DAP (D ₁)							DAP (D ₂)						
			7	14	21	28	35	42	49	7	14	21	28	35	42	49
Composto Dentado	alto try	L 1	23,7363	37,8112	22,8508	19,9048	19,5620	20,8395	21,3447	27,3950	36,3624	30,1258	18,7894	18,3311	21,3598	21,9181
		L 2	24,9960	35,1420	26,7701	22,3386	20,6398	19,2648	19,9261	26,3885	39,4422	24,5196	24,2327	21,9181	19,9530	22,9048
		L 3	24,2032	34,6287	26,5353	20,0050	22,5653	19,2540	19,3694	26,9802	36,4422	21,5451	25,7350	18,6120	22,9635	21,7075
		L 4	26,4980	35,4358	20,6124	20,5812	19,4883	21,6307	23,4105	26,8347	34,3579	20,8247	21,2525	18,3245	20,0134	18,8403
	baixo try	L 5	25,6266	34,6507	24,1412	19,1297	18,5583	18,6636	16,0197	27,0452	35,9999	25,2586	21,9833	21,1729	21,2268	18,4807
		L 6	29,1505	36,6514	28,2777	24,9667	19,3801	20,8775	18,5214	25,8748	34,4162	22,9479	26,5607	21,0626	19,2117	18,5774
		L 7	30,8720	35,3595	26,3259	23,9378	21,2652	22,5531	22,3628	24,6229	34,8125	22,8874	21,1056	23,1825	23,4022	17,7274
		L 8	25,5374	36,5257	24,9583	23,5212	21,3050	19,3326	19,1917	26,7682	38,3284	20,4459	20,3671	21,0994	20,3302	19,0566

Composto	Flint	Linha	DAP (D ₃)							DAP (D ₁)						
			7	14	21	28	35	42	49	7	14	21	28	35	42	49
Composto Flint	alto try	L 1	23,3691	36,1945	25,9830	22,2383	19,8983	21,2461	20,0974							
		L 2	26,9112	31,2864	19,5864	24,2072	13,5404	24,2956	18,7249							
		L 3	26,9279	38,7643	24,3171	19,4414	21,2984	23,0634	20,1246							
		L 4	13,5038	36,2816	20,8884	24,3687	22,6043	19,8926	21,2508							
	baixo try	L 5	24,9896	32,0158	20,7922	21,5450	17,8143	19,3526	19,5072							
		L 6	23,0633	33,8811	24,5710	20,7691	21,5899	19,7906	16,3584							
		L 7	24,3696	36,5614	23,1132	21,2369	19,4931	21,9157	17,5519							
		L 8	23,2707	34,7634	24,9268	20,2693	21,2104	21,1801	20,3199							

LEGENDA: DAP = dias após polinização

D₁ = densidade de 100.000 plantas/ha

D₂ = densidade de 75.000 plantas/ha

D₃ = densidade de 50.000 plantas/ha

alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

linha = progênies S₂

TABELA 21 - Análise da variância para porcentagem de proteína no endosperma, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas em blocos ao acaso, com duas repetições.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	7784,000
Tratamento (A)	2	240238,500*
Resíduo (a)	2	4059,500
Parcelas	5	99276,000
Tratamento (B)	7	121820,428**
A x B	14	107934,714**
Resíduo (b)	21	10753,857
Sub-parcelas	42	61658,571
Tratamento (C)	6	14428777,507**
A x C	12	70018,416**
B x C	42	64983,857**
A x B x C	84	74433,488**
Resíduo (c)	144	8,898701
Total	335	

onde: A = densidade de plantio; B = linhagens; C = épocas de colheita

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

TABELA 22 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcentagem de proteína no endosperma.

Tratamentos		Médias	Flint (F)	Dentado (D)	F (baixo try)	F (alto try)	D (baixo try)	D (alto try)
Densidade de Plantio (A)	D 1	24,22	24,49	23,94	24,99	23,99	23,89	24,00
	D 2	24,39	24,61	24,15	25,32	23,90	24,04	24,27
	D 3	24,51	24,97	24,05	26,40	23,40	23,72	24,39
Linhagem (B)	L 1	24,21			24,34			
	L 2	24,48						
	L 3	24,46				24,06		
	L 4	23,66						
	L 5	23,05					23,49	
	L 6	23,93						
	L 7	24,71						24,25
	L 8	23,80						
Épocas de Colheita (C)	7 DAP	25,73	25,57	25,89	25,30	25,84	26,06	25,73
	14 DAP	35,40	35,80	35,00	36,83	36,71	34,77	35,27
	21 DAP	23,41	23,82	23,00	25,19	22,45	22,00	24,00
	28 DAP	21,82	21,89	21,71	21,92	21,86	21,51	21,90
	35 DAP	20,06	20,12	20,00	20,32	19,92	19,00	21,00
	42 DAP	21,01	21,07	20,96	21,16	21,03	19,99	21,93
	49 DAP	19,43	20,87	18,00	20,94	20,84	17,00	19,00

LEGENDA: baixo try = baixo teor de triptofano
alto try = alto teor de triptofano

TABELA 23 - Desdobramento dos possíveis graus de liberdade para o caracter porcentagem de proteína no endosperma.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Linhagens (B)	7	169,900	
E. Tipos	1	126,1630	126,1630**
E. Teores	1	0,8990	0,8990*
Tipos x Teores	1	2,4200	2,4200**
Linh./Categoria	4	40,4180	10,1045**
Resíduo (b)	21		0,0380
A x B	14	39,2440	
Tipos x Densidade	2	4,8241	2,41205**
Teor x Densidade	2	6,3450	3,1725**
(Tipos x Teores) x Densidade	2	4,6490	2,3245**
Linh./Categoria x Densidade	8	23,4259	2,9282**
Resíduo (b)	21		0,0380
B x C	28	132,2000	
Tipos x Épocas	4	78,4240	19,6060**
Teores x Épocas	4	4,2810	1,0702**
(Tipos x Teores) x Épocas	4	2,2211	0,5527**
Linh./Categoria x Épocas	16	47,2739	2,9546**
Resíduo (c)	216		0,0640

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 24,04

C.V. = 12,40%

TABELA 24 - Porcentagem média de triptofano para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S_2 pertencentes ao composto Dentado e Flint.

		Linha	DAP (D_1)					DAP (D_2)					DAP (D_3)				
			21	28	35	42	49	21	28	35	42	49	21	28	35	42	49
			Composto Flint	baixo try	L 1	5,10	3,09	1,84	1,15	1,04	3,65	2,64	1,88	1,28	0,86	3,71	2,91
	L 2	2,92		2,45	1,63	1,41	1,20	3,78	1,90	1,48	1,25	0,89	5,34	2,04	1,89	1,12	1,27
alto try	L 3	3,64		2,65	1,51	1,42	1,42	4,85	2,33	1,20	1,26	0,94	3,81	2,82	1,36	1,10	1,24
	L 4	4,99		2,40	1,75	1,08	0,87	4,75	1,93	1,86	1,70	1,01	4,28	2,46	1,52	1,61	1,32
Composto Dentado	baixo try	L 5	4,09	2,52	1,55	1,46	1,36	4,01	2,45	1,60	1,19	1,09	4,45	2,30	1,73	1,15	1,06
		L 6	3,22	2,36	1,56	1,31	1,30	4,48	2,42	1,42	1,23	1,28	3,91	2,13	1,56	1,30	1,47
	alto try	L 7	3,44	2,22	1,35	1,14	1,03	4,55	2,23	1,33	1,37	1,35	5,20	2,10	1,97	1,03	1,60
		L 8	4,81	2,22	1,35	1,14	1,15	6,28	2,17	1,38	1,41	1,31	4,79	2,96	1,53	1,06	1,51

LEGENDA: DAP = dias após polinização

D_1 = densidade de 100.000 plantas/ha

D_2 = densidade de 75.000 plantas/ha

D_3 = densidade de 50.000 plantas/ha

alto try = alto teor de triptofano

baixo try = baixo teor de triptofano

linha = progênies S_2

TABELA 25 - Análise da variância para o caracter porcentagem de triptofano, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas, em blocos ao acaso, com duas repetições.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	0,065
Tratamento (A)	2	0,411*
Resíduo (a)	2	0,116
Parcelas	5	0,224
Tratamento (B)	7	0,239**
A x B	14	0,303**
Resíduo (b)	21	0,065
Sub-parcelas	42	0,182
Tratamento (C)	4	78,546**
A x C	8	0,399**
B x C	28	0,315**
A x B x C	56	0,314
Resíduo (c)	96	0,075
Total	239	

onde: A = densidade de plantio; B = linhagem; C = épocas de colheita

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 23,709

C.V. = 3,2%

TABELA 26 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcentagem de triptofano.

Tratamentos	Médias	Flint (F)	Dentado (D)	F (baixo try)	F (alto try)	D (baixo try)	D (alto try)	
Densidade de Plantio (A)	D 1	23,535						
	D 2	23,555						
	D 3	24,039						
Linhagem (B)	L 1	25,304		23,954				
	L 2	22,605						
	L 3	23,416			23,445			
	L 4	23,475						
	L 5	22,295				22,601		
	L 6	22,920						
	L 7	23,886					24,827	
	L 8	25,769						
Época de Colheita (C)	7 DAP	não determinado						
	14 DAP	não determinado						
	21 DAP	51,107	49,411	52,805	49,990	48,830	48,605	57,000
	28 DAP	26,204	27,269	25,140	27,934	26,600	25,060	25,215
	35 DAP	16,065	16,600	15,530	17,408	15,772	15,431	15,629
	42 DAP	13,354	13,709	13,050	13,128	14,289	12,495	13,622
49 DAP	11,785	11,519	12,050	11,310	11,733	11,291	12,800	

LEGENDA: alto try = alto teor de triptofano
baixo try = baixo teor de triptofano

TABELA 27 - Porcentagem média de triptofano na proteína para 7 diferentes épocas de colheita, em três densidades de plantio, obtidas de 8 progênies S₂ pertencentes ao composto Dentado e Flint.

Composto	Linha	DAP (D ₁)							DAP (D ₂)							DAP (D ₃)								
		21	28	35	42	49	21	28	35	42	49	21	28	35	42	49	21	28	35	42	49			
Composto Flint	L 1	0,5833	0,3086	0,1806	0,1209	0,1121	0,5501	0,2488	0,1723	0,1376	0,0952	0,4824	0,3234	0,1844	0,1293	0,1245								
	L 2	0,3956	0,2744	0,1694	0,1371	0,1213	0,4642	0,2315	0,1634	0,1253	0,1034	0,5234	0,2485	0,1758	0,1373	0,1204								
Composto Dentado	L 3	0,4843	0,2658	0,1714	0,1374	0,1331	0,5232	0,3009	0,1122	0,1460	0,1041	0,4642	0,2744	0,1460	0,1285	0,1263								
	L 4	0,5150	0,2481	0,1715	0,1181	0,1030	0,4960	0,2061	0,1734	0,1711	0,0966	0,4478	0,3010	0,1721	0,1605	0,1414								
Composto Dentado	L 5	0,4906	0,2399	0,1451	0,1372	0,1080	0,5065	0,2490	0,1705	0,1282	0,1016	0,4634	0,2488	0,1545	0,1118	0,1047								
	L 6	0,4564	0,2965	0,1523	0,1378	0,1209	0,5354	0,2498	0,1502	0,1195	0,1201	0,4815	0,2213	0,1694	0,1292	0,1208								
Composto Dentado	L 7	0,4539	0,2660	0,1445	0,1302	0,1160	0,5222	0,2362	0,1546	0,1614	0,1264	0,6012	0,2238	0,1931	0,1133	0,1416								
	L 8	0,6023	0,2493	0,1453	0,1114	0,1120	0,6430	0,2216	0,1458	0,1450	0,1254	0,6000	0,3002	0,1460	0,1717	0,1543								

LEGENDA: DAP = dias após polinização

alto try = alto teor de triptofano

D₁ = densidade de 100.000 plantas/ha

baixo try = baixo teor de triptofano

D₂ = densidade de 75.000 plantas/ha

linha = progênies S₂

D₃ = densidade de 50.000 plantas/ha

TABELA 28 - Análise da variância para porcentagem de triptofano na proteína, obedecendo ao esquema de parcelas sub-sub-divididas, em blocos ao acaso, com duas repetições.

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.
Blocos (R)	1	0,010
Tratamento (A)	2	6,554*
Resíduo (a)	2	1,084
Parcelas	5	3,057
Tratamento (B)	7	46,288**
A x B	14	13,035**
Resíduo (b)	21	0,448
Sub-parcelas	42	12,284
Tratamento (C)	4	12769,1442**
A x C	8	28,025**
B x C	28	35,093**
A x B x C	56	15,491**
Resíduo (c)	96	0,562
Total	239	

onde: A = densidade de plantio; B = linhagens; C = épocas de colheita

* = significativo pelo teste "F" (P = 5%)

** = significativo pelo teste "F" (P = 1%)

Média = 2,157

C.V. = 12,5%

TABELA 29 - Médias referentes aos tratamentos: densidade de plantio (A), linhagem (B) e época de colheita (C) para porcentagem de triptofano na proteína.

Tratamentos	Médias	Flint (F)	Dentado (D)	F (baixo try)	F (alto try)	D (baixo try)	D (alto try)	
Densidade de Plantio (A)	D 1	2,100						
	D 2	2,134						
	D 3	2,238						
Linhagem (B)	L 1	2,110		2,164				
	L 2	2,218			2,104			
	L 3	2,141						
	L 4	2,067						
	L 5	2,220						
	L 6	2,025				2,123		
	L 7	2,138					2,237	
	L 8	2,337						
Época de Colheita (C)	7 DAP	não determinado						
	14 DAP	não determinado						
	21 DAP	4,281	4,303	4,258	4,543	4,063	4,048	4,469
	28 DAP	2,415	2,359	2,471	2,423	2,295	2,433	2,509
	35 DAP	1,573	1,500	1,645	1,542	1,458	1,544	1,747
	42 DAP	1,326	1,228	1,422	1,241*	1,215	1,231	1,614
	49 DAP	1,191	1,102	1,280	1,125	1,078	1,252	1,307

LEGENDA: alto try = alto triptofano
baixo try = baixo triptofano