

**TABELA 211.** Índices de vigor de sementes de milho, de cultivares (c) de ciclos normal (N), precoce (P) e superprecoce (SP), associados com crescimento de planta e rendimento de grãos. (Média de quatro repetições). CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Trat.	IV <sup>1</sup>	Vigor do lote	Densidade de cultivo (1.000 plantas/ha)	Matéria seca da planta (máx.)		Rendimento de grãos (kg/ha)
				DAS <sup>2</sup>	g/m <sup>2</sup>	
N.1	9,0 a <sup>3</sup>	Alto	33	133	1.111	5.528 ef
			55	133	1.654	6.927 cde
			77	147	1.844	9.353 b
P.1	0,5 b	Baixo	33	133	1.234	5.837 def
			55	133	1.648	7.760 c
			77	133	2.159	11.190 a
SP.1	10,0 a	Alto	33	119	776	3.653 g
			55	119	1.151	5.230 f
			77	147	1.423	7.029 cd

<sup>1</sup> O Índice de Vigor (IV) foi determinado para cada lote de sementes, conforme mostrado em estudo prévio.

<sup>2</sup> DAS - Dias após a semeadura

<sup>3</sup> Na coluna, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.

### CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS GENÉTICOS EM MILHO ATRAVÉS DE ELETROFORESE DE PROTEÍNAS

Técnicas eletroforéticas baseiam-se na separação de moléculas por sua carga elétrica, tamanho e forma, através da migração em um meio suporte e tampões adequados, sob a influência de um campo elétrico. Dentre as mais utilizadas está a SDS-PAGE, onde o sódio dodecil sulfato, um detergente aniônico, liga-se às regiões hidrofóbicas de proteínas, para separação em suas unidades componentes (polipeptídeos), e faz com que as proteínas percam seu efeito de carga específica, separando-se, devido às suas diferenças de pesos moleculares. Eletroforese em gel de poli-acrilamida requer pequena quantidade de amostra, permite análise simultânea de diversas amostras e confere rápida separação com alta resolução de bandas, tornando possível a avaliação em nível qualitativo (ausência/presença) e quantitativo (diferença de concentração) dos polipeptídeos existentes em uma amostra.

Entre as vantagens da eletroforese, está o fato de que a variação no padrão de bandas pode ser diretamente associada com a variação dos genes que codificam as proteínas variantes, induzidas por condições ambientais (estresse salino, respostas a patógenos, choque térmico etc.).

As variações genéticas para sistemas regulatórios, os quais controlam quantidades de proteínas, parecem ser maiores que as variações em genes estruturais. Assim, avaliações de perfis eletroforéticos de proteínas desnaturadas são utilizadas para caracterização de cultivares, principalmente eletroforese de proteínas de sementes.

Os objetivos deste estudo foram caracterizar, através de eletroforese de proteínas de sementes (SDS-PAGE), cultivares de milho de diferentes ciclos (normal, precoce e superprecoce) e avaliar possíveis correlações entre padrões de proteínas e diferentes qualidades fisiológicas de sementes de milho, determinadas por técnicas laboratoriais usadas em tecnologia de sementes.

Neste estudo, foram utilizadas três cultivares comerciais de milho, representativas de diferentes ciclos de cultivo, quais sejam; c1- normal; c2- precoce; c3- superprecoce.

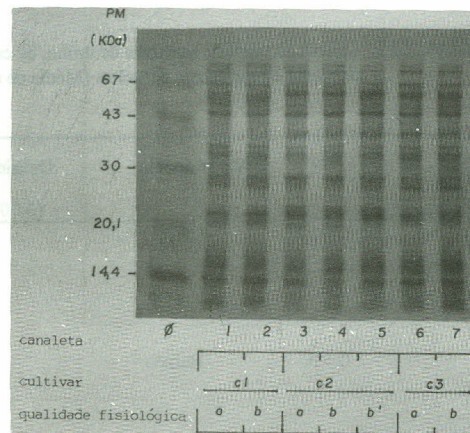
Utilizou-se o método de envelhecimento artificial (96h, 42°C, 100% UR, B.O.D.), descrito por Delouche (1965) e Delouche & Baskin (1973), para a obtenção de sementes das cultivares com qualidade fisiológica presumivelmente baixa.

Para os testes laboratoriais usualmente utilizados em tecnologia de sementes, os tratamentos foram: três cultivares (c1, c2, c3), em dois níveis de qualidade fisiológica (alta e baixa). Utilizaram-se quatro repetições. Os testes de germinação e vigor das sementes foram realizados conforme Brasil (1976) e compreenderam: germinação padrão, frio com solo, envelhecimento artificial, condutividade elétrica, lixiviação de íons, estresse com agente osmótico (PEG 6000: -2 e -4 bárias) e velocidade de emergência no campo.

Os extratos protéicos, necessários para as separações eletroforéticas de proteínas, foram obtidos de 25 sementes por tratamento, utilizando-se um extrator Tris/HCl 1 N 100 mM, pH 8,0 e 2-Mercaptoetanol 0,5%. A eletroforese foi realizada conforme protocolo descrito por Laemmli (1970) em gel de acrilamida a 12,5%, sendo aplicados 10 ul por amostra e 20 ul do padrão Pharmacia. A análise quantitativa dos perfis eletroforéticos foi feita em

densitômetro Hoefer Scientific Instruments GS 300, San Francisco, com auxílio computacional.

Os resultados obtidos através da análise de proteínas apresentam consistência com os resultados de germinação e vigor. Variável polimorfismo foi obtido ao se proceder à análise de proteínas desnaturadas totais. Como se observa na Figura 52 - foto em gel de poliácridamida 12,5%, a distribuição de bandas para cada cultivar apresenta distinção. Dentro de cultivar, as distinções são relativamente pequenas, devido possivelmente ao pouco (ou quase nulo) efeito do método de envelhecimento artificial utilizado para reduzir a qualidade fisiológica das sementes, conforme observado pelos resultados laboratoriais de germinação e vigor aplicados nos tratamentos programados (Tabela 212).



**FIGURA 52.** SDS PAGE gel de proteínas solúveis extraídas de sementes de cultivares de milho de diferentes ciclos (c1-normal; c-2 precoce, c-3 superprecoce) e de qualidade fisiológica presumivelmente diferente (a-alta; b-baixa; b'- baixa baixa); 10 ul amostra por canaleta, corado com Coomassie Brilliant Blue.

canaleta 0 padrão Pharmacia	cultivar	ciclo	qualidade fisiológica
canaleta 1	c1	normal	alta
canaleta 2	c1	normal	baixa (presumível)
canaleta 3	c2	precoce	alta
canaleta 4	c2	precoce	baixa
canaleta 5	c2	precoce	baixa (presumível)
canaleta 6	c3	superprecoce	alta
canaleta 7	c3	superprecoce	baixa (presumível)

**TABELA 212.** Caracterização quanto à qualidade fisiológica (germinação e vigor) de sementes de milho de cultivares de diferentes ciclos (c1-normal; c2-precoce; c3-superprecoce). Média de 4 repetições. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Testes <sup>1</sup>	c1 <sup>2</sup>		c2			c3	
	a	b'	a	b	b'	a	b
U(%)	11,5	12,2		13,1	13,6	12,0	12,9
GP (%)	94	93	92	52	38	97	95
FS (%)	89	97		26	20	100	97
EAt (%)	88	88		53	21	88	89
PEG (%), -2bar	58	49		4	3	53	50
PEG (%), -4bar	13	14		7	1	15	18
VEC	38,60	37,33		24,66	21,23	38,61	38,0
% E (21DAS)	99,5	97,5		68,50	62,50	98,00	97,5
CE (umhos/g)	12,10	9,99		27,63	16,70	10,72	9,77
LK (ug k/g)	209,0	200,3		802,6	587,5	254,8	230,9

<sup>1</sup> umidade da semente; GP - germinação padrão; FS - frio com solo; EAt - envelhecimento artificial (técnica); velocidade de emergência no campo; %E(21DAS) - porcentagem de emergência 21 após a semeadura; LK - lixiviação K

PEG - polietileno glicol; VEC - condutividade elétrica (24h);

<sup>2</sup> Sementes de cultivares de milho de qualidade fisiológica presumivelmente diferente (a-alta, b-baixa, b'-baixa baixa)

Utilizando-se a densitometria para caracterizar as bandas selecionadas dentre aquelas mais variáveis, obtiveram-se os dados apresentados na Tabela 213. Trata-se graficamente dos valores quantitativos, resultado da integração das áreas de picos correspondentes às bandas. Esses valores, expressos em milímetros quadrados, são conseqüência da quantidade de proteínas presentes em cada banda, as quais apresentam movimento relativo (Rf) ao migrar ao longo do gel. Ficam evidentes, portanto, as diferenças devido à presença ou ausência de bandas, bem como diferenças quantitativas entre bandas do mesmo Rf.

Na Tabela 214, são apresentados os valores (KDa) correspondentes a pesos moleculares das bandas polimórficas, permitindo observar diferenças quantitativas para as bandas presentes, entre cultivares.

Os resultados, mesmo que preliminares, mostram potencial para os métodos utilizados nesse estudo, para discriminação de genótipos de milho. Sugere-se, entretanto, a continuidade dessa linha de pesquisa incorporando:

a) utilização de linhagens de milho com características marcantes em relação a ciclos de cultivo;



**TABELA 214.** Valores (KDa) correspondentes a pesos moleculares das bandas polimórficas obtidas por eletroforese de proteínas totais desnaturadas (SDS-PAGE, 12,5%) de sementes de cultivares de milho de diferentes ciclos (c1-normal; c2-precoce; c3-superprecoce) e de qualidade fisiológica diferente (a-alta; b-baixa; b - presumivelmente baixa após a aplicação do método de envelhecimento artificial, segundo Delouche, 1965). CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Banda	RF <sup>1</sup>	c1		c2			c3		Padrão Pharmacia
		a	b'	a	b	b'	a	b'	
01	0,180								67,0
02	0,294								43,0
03	0,468								30,0
04	0,673								20,1
05	0,835								14,4
06		69,0	68,8	69,6	69,4	69,2	69,8	74,0	
07		66,5	66,2	66,9	66,7	66,9	67,3	67,2	
08		63,3	63,0	64,1	63,7	64,1	64,6	64,2	
09		60,1	59,8	60,8	60,7	60,8	60,9	60,7	
10		58,7	57,8	58,4	56,6	56,3	56,3	55,9	
11		56,4	55,7	56,5	54,4	51,8	51,4	51,9	
12		55,1	54,3	54,4	52,5	48,4	49,0	48,7	
13		53,5	52,9	52,1	48,8	45,4	46,2	46,0	
14		51,8	51,6	51,2	46,1	41,4	42,2	41,9	
15		48,1	48,0	48,4	42,6	37,6	38,0	37,9	
16		45,1	45,3	45,8	41,7	35,3	35,7	35,2	
17		41,3	43,1	41,7	38,2	33,0	33,2	33,0	
18		37,5	41,4	38,0	36,2	29,2	32,3	29,5	
19		35,0	37,7	36,0	35,3	27,7	29,6	28,0	
20		32,6	35,1	33,5	33,2	25,3	28,2	25,6	
21		29,4	33,3	29,7	29,8	23,1	26,0	25,2	
22		27,7	29,5	28,3	28,3	22,2	25,0	22,6	
23		25,5	27,9	25,8	25,7	19,9	22,7	21,3	
24		23,4	25,8	23,6	23,8	18,9	18,9	19,1	
25		22,2	23,3	22,7	22,7	18,5	17,8	17,9	
26		20,6	22,4	20,8	20,6	17,6	17,0	16,9	
27		18,7	21,0	19,0	19,0	16,0	15,4	16,4	
28		17,4	19,0	18,0	15,9	15,4	14,8	15,4	
29		16,6	17,8	15,8	14,8	15,7	13,6	14,8	
30		15,6	16,8	15,0	13,5	13,2	11,6	13,5	

<sup>1</sup> Rf: movimento relativo de proteínas que migram no gel.

### FATORES ECOFISIOLÓGICOS QUE AFETAM O RENDIMENTO DE MILHO

Os fatores que envolvem o rendimento de grãos podem ser sumarizados na seguinte expressão:  $RG/A = AF/A \times NG/AF \times PG$ ; onde, RG- rendimento de grãos; A- área do terreno; AF- área foliar; NG- número de grãos; PG- peso de grãos (quantidade de fotossintatos armazenados nos grãos);  $AF/A = IAF$  (índice de área foliar - mede a eficiência da interceptação de luz);  $NG/AF$  é o tamanho do dreno.

A expressão  $NG/AF \times PG$  é a eficiência de rendimento, que é uma função da eficiência fotossintética na produção de grãos, se toda a matéria seca produzida após antese é translocada para o grão em crescimento (enchimento de grãos), ou é uma função da eficiência de translocação.

Neste estudo, avaliou-se a relação entre fonte de assimilados (folhas) e grão-dreno, buscando-se fatores que limitam o rendimento de grãos em plantas de milho. Procurou-se determinar, entre as cultivares de milho utilizadas, se fonte (superfície foliar) ou tamanho do dreno (grão) limitam o rendimento; se há ou não competições entre as partes vegetativa e reprodutiva das plantas; se esta

é a causa principal que limitou a capacidade de dreno das cultivares. Compararam-se ainda as respostas fisiológicas e a eficiência das cultivares quanto à duração do crescimento e rendimento, nas fases vegetativa e reprodutiva.

Foram utilizadas três cultivares comerciais de milho, representativas de diferentes ciclos de cultivo, quais sejam: c1- normal; c2- precoce; c3- superprecoce, cultivadas em três densidades de população de plantas (d1- 33 mil, d2- 55 mil e d3- 77 mil plantas/ha), totalizando nove tratamentos (c1d1, c1d2, c1d3, c2d1, c2d2, c2d3, c3d1, c3d2, c3d3). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por um fatorial  $3^2$ , formado pelos fatores cultivar e densidade, cada um com três níveis (cultivar: c1, c2, c3; densidade: d1, d2, d3). Os resultados referentes à eficiência das cultivares quanto à duração do crescimento e rendimento nas fases vegetativa e reprodutiva são apresentados nas Tabelas 215 e 216.

Os rendimentos de grãos e seus componentes variaram entre as cultivares avaliadas e entre as densidades, por cultivar (Tabela 217). Os rendimentos de grãos foram significativamente maiores nas maiores densidades de