

# UTILIZAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS PARA AVALIAÇÃO DA PUREZA GENÉTICA EM SEMENTES HÍBRIDAS DE MILHO<sup>1</sup>

ÉDILA VILELA DE RESENDE VON PINHO<sup>2</sup>, RENZO GARCIA VON PINHO<sup>3</sup> e SILVIO MOURE CICERO<sup>4</sup>

**RESUMO** - Em campos de produção de sementes híbridas de milho, a remoção incompleta dos pendões liberadores de pólen do parental fêmea proporciona a ocorrência de autofecundação, principal causa de contaminação genética dos lotes. O trabalho teve como objetivo levantar características morfológicas que pudessem ser utilizadas como marcadores para a identificação de sementes provenientes do parental fêmea autofecundado misturadas em lotes de sementes híbridas. Foram produzidas sementes dos híbridos C 901, C 808A, C 425 e C 701, sendo o primeiro um híbrido simples; o segundo, triplo; e os dois últimos, duplos; e sementes dos parentais-fêmeas autofecundados. Avaliações foram realizadas por diferentes avaliadores no estágio de plântula, em plantas com cinco a sete folhas, no florescimento, na colheita e na pós-colheita. Foram calculadas as porcentagens de acerto e de erro durante as avaliações e o desvio-padrão da média dos resultados obtidos, por três avaliadores, em quatro repetições. Para verificar a significância dos desvios ocorridos entre os resultados obtidos pelos avaliadores, foi utilizado teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Foi possível separar, por meio de características morfológicas, as plantas provenientes de autofecundação das plantas híbridas, em três das quatro cultivares estudadas. A fase de desenvolvimento mais adequada para avaliação da pureza genética dos lotes variou com o híbrido.

Termos para indexação: autofecundação, qualidade, contaminação.

## USE OF MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS FOR GENETIC PURITY EVALUATION OF HYBRID CORN SEED

**ABSTRACT** - In hybrid corn seed production fields, the incomplete removal of the female parental tassels which liberates its pollen promotes the occurrence of selfing, the main source of genetic contamination. The present work had the aim of rising morphological characteristics that could be used as markers to identify seeds derived from the selfed female parental mixed in hybrid seed lots. Hybrid seeds and selfed female parental seeds of the single hybrid C 901, the three way hybrid C 808A and the double-cross hybrids C 425 and C 701 were produced. Evaluations were carried out by different investigators on the stages of seedling, plants with 5-7 leaves, harvest and postharvest. The percentage of errors and the standard deviation of the results observed on the four replications of the three investigators were calculated. To verify the deviation significances of the normal curve that occurred during the process of evaluation of the three investigators, the chi-square test ( $\chi^2$ ) was used. It was possible to separate, through morphological characteristics, the plants selfed out of hybrid plants, in three out of four cultivars studied. The development stage most appropriate to evaluate the genetic purity has varied with the hybrids.

Index terms: selfing, quality, contamination.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 18 de março de 1997.

<sup>2</sup> Eng. Agr., Dr., Dep. de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG.

<sup>3</sup> Eng. Agr., M.Sc., Estudante de Pós-graduação, Dep. de Biologia, UFLA.

<sup>4</sup> Eng. Agr., Dr., Dep. de Agricultura, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), CEP 13418-900 Piracicaba, SP.

## INTRODUÇÃO

Empresas produtoras de sementes de milho têm investido no controle da qualidade, monitorando todas as fases da produção, objetivando assegurar a chegada, ao agricultor, da heterose alcançada pelo melhoramento genético, o que atesta a importância da manutenção da pureza genética, de cada combi-

nação híbrida, em todas as fases do processo de produção (Craig, 1977; Stuber et al., 1988).

A principal causa de contaminação genética, em campos de produção de sementes híbridas de milho, é a ocorrência de autofecundação do parental fêmea, decorrente da remoção incompleta dos pendões liberadores de pólen (Hutchcroft, 1959).

A mistura de sementes provenientes do parental fêmea autofecundado, com as sementes híbridas, pode reduzir a qualidade fisiológica do lote e promove perdas no rendimento de grãos, contrárias aos objetivos do ganho genético alcançado pelas melhoristas (Smith & Wyck, 1984; Von Pinho, 1995).

Padrões de tolerância para impurezas genéticas não têm sido estabelecidos nos sistemas de produção de sementes de milho. Talvez, uma das causas desta situação seja a falta de métodos para identificá-las, principalmente no que se refere à existência de testes aplicáveis na rotina da análise de sementes.

A expressão de xênia, descrita por Johnson & Miller (1939) em sementes de milho, pode ser utilizada na estimativa da pureza genética. Assim, dependendo dos genótipos envolvidos, contaminações resultantes de pólen estranho poderão ser identificadas nas sementes, sem a necessidade de avaliação das características das plântulas.

Alguns trabalhos têm enfatizado a utilização de características morfológicas das plantas em vários estádios de desenvolvimento para a avaliação da pureza genética em milho (Pauksens, 1978; Pauksens & Dhesi, 1978; Cardy & Kannenberg, 1982). São consideradas, aqui, as cores da base do mesocótilo e das raízes, a altura da planta, a ocorrência de perfilho, a data de emissão dos estilo-estigma, o grau de macho esterilidade, as características da palha da espiga, dos grãos e espigas na maturidade.

Marcadores morfológicos podem apresentar variação em decorrência da interação com o ambiente e da falta de conhecimento do controle genético envolvido (Ditmer, 1979; Schmidt, 1979; Smith & Smith, 1989). Por outro lado, problemas associados à interpretação de descritores morfológicos podem ser contornados com avaliações fenotípicas em condições ambientais distintas ou com a sele-

ção de descritores de reduzida interação com o ambiente (Goodman & Paterniani, 1969).

Smith & Smith (1989) estudaram a interação ambiental de 57 características morfológicas em 31 linhagens de milho, através de estimativas de repetibilidade de dados coletados em três locais durante dois anos. Repetibilidade foi observada, quanto a características da espiga e pendão (cor do estilo-estigma, número de ramificações no pendão primário, cor da antera e cor do grão) e para algumas características vegetativas (ângulo da folha e número de folhas).

Testes eletroforéticos baseados em caracteres bioquímicos podem ser utilizados para diagnosticar cruzamentos e autofecundações (Stuber et al., 1988; McDonald Junior, 1990), na caracterização de híbridos (Koranyi, 1989) e linhagens de milho (Ednie et al., 1978; Goodman & Stuber, 1980).

Perfis eletroforéticos de zeína, a maior proteína de reserva em sementes de milho, têm sido utilizados na caracterização de linhagens e híbridos (Nucca et al., 1978; Brink et al., 1989; Ottoboni & Steffensen, 1989). Outros autores têm empregado o perfil eletroforético de proteínas do embrião de milho (Dameval et al., 1987).

Apesar da divulgação dos testes eletroforéticos para avaliação da pureza genética em milho, o seu uso demanda custos apreciáveis, representatividade das amostras, e perfeito conhecimento das isoenzimas dos parentais do híbrido (Smith & Weissinger, 1984). Outra limitação dos testes eletroforéticos para a avaliação da pureza genética é o grande volume de lotes de sementes produzidos em cada safra, os quais são submetidos a avaliação da pureza genética pelas empresas produtoras. A aplicação de tais técnicas, nas condições citadas torna-se economicamente inviável. Algumas outras limitações dos testes eletroforéticos são abordados por Stuber et al. (1988).

No caso do milho, 50% dos laboratórios filiados à AOSA utilizam características morfológicas de sementes e de plantas para a identificação varietal, e os demais utilizam eletroforese de isoenzimas (Payne, 1986).

Este trabalho teve como objetivo selecionar características morfológicas que pudessem ser utilizadas como marcadores para a identificação de

sementes provenientes do parental fêmea autofecundado misturadas em lotes de sementes híbridas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório de análise de sementes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP, e na área experimental da Cargill Agrícola S/A, em Santa Helena de Goiás, GO. Em Santa Helena de Goiás, foram produzidas sementes dos híbridos C 901, C 808 A, C 701 e C 425, sendo o primeiro um híbrido simples, o segundo, um híbrido triplo, e os dois últimos, híbridos duplos. Concomitantemente à produção das sementes híbridas, foram produzidas sementes do parental fêmea autofecundado de cada híbrido.

Após obtenção das sementes, foram instalados os ensaios e realizadas as avaliações em sementes e em plantas em vários estádios de desenvolvimento.

Para a avaliação no estádio de plântulas, sementes híbridas e sementes provenientes do parental fêmea autofecundado foram semeadas em caixas plásticas distintas contendo solo e areia na mesma proporção. A avaliação foi realizada no terceiro dia após a emergência, quando os dois primeiros folíolos já se encontravam desenvolvidos.

Durante a avaliação, as plântulas foram arrancadas e colocadas sobre superfície branca, formando quatro parcelas de 100 plântulas cada; cada parcela continha 20% de plântulas provenientes do parental fêmea autofecundado. Nestas condições, houve controle do número e da posição das plântulas provenientes do parental fêmea autofecundado na parcela.

Após a preparação das parcelas, três avaliadores, previamente informados das características que deveriam ser observadas, avaliaram cada plântula, julgando quais eram provenientes de sementes híbridas e quais eram provenientes do parental fêmea autofecundado.

As características observadas referentes à separação das plântulas foram as cores da bainha da primeira folha, do coleóptilo e da nervura central da primeira folha, todas relacionadas à presença e à intensidade de antocianina. Observaram-se, também, características, relacionadas ao vigor das plântulas, como: número de folíolos expostos, e tonalidade do verde das folhas.

Para a avaliação das plantas no campo, foi instalado um experimento utilizando o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada parcela constituída por uma linha de 20 m de comprimento contendo 80% de plantas híbridas e 20% das provenientes do parental fêmea autofecundado. A densidade foi de cinco plantas/metro, totalizando 100 plantas por parcela.

Os locais que continham sementes provenientes do parental fêmea autofecundado foram identificadas em croqui.

Ao lado das linhas, nas quais foram realizadas as avaliações, foi instalada uma linha contendo apenas plantas provenientes do parental fêmea autofecundado de cada híbrido, objetivando facilitar a identificação durante as avaliações. O espaçamento entre as linhas foi de 1 m.

As avaliações foram realizadas por três avaliadores que desconheciam a porcentagem existente de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado. As plantas foram avaliadas individualmente e o avaliador apontava as plantas que julgava serem provenientes do parental fêmea autofecundado.

As plantas foram avaliadas quando apresentavam de cinco a sete folhas, no florescimento, na colheita e em pós-colheita. Na primeira época, as características avaliadas foram o vigor das plantas e o ângulo de inserção das folhas. Na segunda, foram avaliadas as cores da antera, dos estileto-estigmas e das glumas das flores masculinas, a precocidade no florescimento feminino e o vigor das plantas. Na colheita, em condições de campo foram avaliados o vigor das plantas, o tamanho das espigas, a cor e o tipo de endosperma dos grãos. Em pós-colheita em condições de laboratório, avaliaram-se a cor e o tipo do endosperma dos grãos.

Durante as avaliações da pureza genética foram calculadas as porcentagens de acerto e de erro. A porcentagem de acerto foi calculada pelo quociente da frequência observada pela frequência esperada, multiplicado por cem.

No cálculo da porcentagem de erro foram computadas as plantas híbridas consideradas como provenientes do parental fêmea autofecundado e as plantas autofecundadas que deixaram de ser consideradas nas avaliações. O somatório dessas plantas foi dividido pelo número total de plantas na parcela e multiplicado por cem.

Foi calculado o desvio-padrão da média dos resultados obtidos nas quatro repetições, obtidos pelos três avaliadores, conforme Pimentel-Gomes (1987).

Para verificar a significância dos desvios, ocorridos entre os resultados obtidos pelos avaliadores foi utilizado o teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Neste teste, os desvios foram transformados em um único valor de  $\chi^2$ , representando a medida padronizada da magnitude dos desvios (Ramalho et al., 1990).

O valor de  $\chi^2$  foi estimado pela seguinte expressão:

$$\chi^2 = \sum (F_o - F_e)^2 / F_e$$

onde:

$F_o$  = frequência observada de plantas provenientes de sementes do parental fêmea autofecundado;

Fe = frequência esperada de plantas provenientes de sementes do parental fêmea autofecundado.

Os dados de frequência esperada e observada foram obtidos da média de quatro repetições para cada avaliador.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados médios, dos percentuais de acerto e erro, obtidos nas identificações de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado.

No híbrido C 701, maior porcentagem de acerto e menor porcentagem de erro foi observada durante a avaliação das espigas em pós-colheita. A principal característica utilizada para separação foi a cor do grão. Espigas das plantas contaminantes apresentavam grãos com coloração laranja-escuro, e as das híbridas apresentavam-se com tons laranja mais claros (Fig. 1). Esta mesma característica foi adotada durante a colheita, onde as espigas foram avaliadas nas plantas, com índice de acerto de 92,3%. A avaliação das espigas em pós-colheita foi feita à sombra, o que pode ter facilitado a avaliação da cor em relação à realizada na planta ao nível de campo.

Na avaliação durante o florescimento, houve acerto de 93,8% das plantas contaminantes. A principal característica utilizada para a separação das plantas foi a pigmentação das anteras. Anteras de

plantas contaminantes mostravam-se com coloração violeta devido à presença de antocianina, ao passo que as plantas híbridas mostravam-se verdes, como o indicado na Fig. 2.

Durante a avaliação, algumas plantas contaminantes apresentavam anteras com coloração verde; no entanto, na conexão das glumas, que envolvem os estames, havia anel com coloração avermelhada, ausente nas plantas híbridas (Fig. 3); este anel foi citado por Pauksens & Dhési (1978) como marcador adequado para a identificação de híbridos.

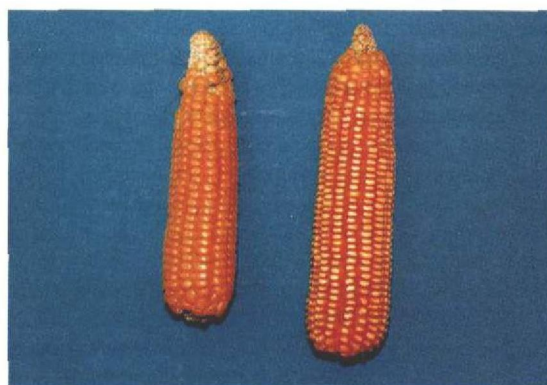


FIG. 1. Espigas oriundas de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado (esquerda) e de plantas híbridas (direita), do híbrido C 701.

TABELA 1. Resultados de identificação (% de acerto e % erro) de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado de diferentes híbridos em várias épocas de avaliação.

Híbridos		Épocas de avaliação				
		Plântulas	5-7 folhas	Florescimento	Colheita	Pós-colheita
C 701	% acerto	90,0±4,1 <sup>1</sup>	84,7±5,1	93,8±2,5	92,3±1,7	97,1±2,5
	% erro	7,5±1,0	8,5±3,1	3,6±0,5	2,6±0,5	1,1±0,6
C 425	% acerto	37,5±2,5	67,8±7,0	58,3±6,6	63,1±5,1	58,8±7,4
	% erro	30,0±4,7	17,9±3,1	22,1±1,6	12,1±1,5	17,2±2,1
C 808 A	% acerto	95,0±2,9	84,6±5,9	96,8±2,0	92,6±2,0	97,9±2,5
	% erro	3,1±1,1	8,6±2,9	1,1±0,4	3,3±1,4	0,8±0,5
C 901	% acerto	95,0±2,9	98,5±1,2	98,3±0,6	98,2±2,3	81,7±5,4
	% erro	1,2±0,7	1,7±0,4	0,6±0,1	0,6±0,6	6,4±1,0

<sup>1</sup> Desvio-padrão da média.

A avaliação no estágio de cinco a sete folhas foi a menos eficiente, com índice de acerto de 84,7% e de erro de 8,5%. O vigor das plantas neste estágio, considerando a altura da planta e a espessura do colmo, pode variar com a fertilidade do solo, estande e outros fatores ambientais influenciando na precisão da avaliação. A avaliação no estágio de plântulas foi mais eficiente do que no estágio de cinco e sete folhas, com índice de acerto de 90%. Neste estágio, a principal característica utilizada foi a intensidade da pigmentação de antocianina na bainha da primeira folha. Plântulas provenientes de

autofecundação apresentavam a bainha da primeira folha com cor púrpura acentuada, principalmente nas partes mediana e superior, como mostrado na Fig. 4; essa cor, na maioria das vezes, se estendia à nervura central da primeira folha. A bainha da primeira folha da plântula híbrida apresentava-se com tom rosado, mais claro que o descrito nas plantas provenientes de autofecundação; a nervura central da primeira folha, geralmente apresentava-se com coloração esverdeada.

Quanto aos resultados encontrados nas avaliações das plantas no híbrido C 425, a fase que proporcionou maior porcentagem de acerto foi a de cinco a sete folhas, com 67,8%. Em todas as épocas de avaliação, não foi observada nenhuma característica que permitisse separação precisa entre os dois tipos de planta. No estágio de plântula, a bainha da primeira folha das plantas contaminantes apresentava-se arroxeadas e esverdeadas, dificultando a adoção de um padrão para avaliação.

Quanto ao híbrido C 808 A, maiores porcentagens de acerto foram observadas, nas avaliações realizadas em espigas em pós-colheita, florescimento e estágio de plântula. No estágio de plântula, a cor da bainha da primeira folha foi a principal característica utilizada; plântulas híbridas apresentavam a bainha da primeira folha com coloração esverdeada ou púrpura em tons claros; plântulas provenientes do parental fêmea autofecundado, apresentavam a bainha da primeira folha com coloração púrpura



FIG. 2. Pendões com anteras oriundos de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado (inferior) e de plantas híbridas (superior), do híbrido C 701.



FIG. 3. Glumas oriundas de pendões de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado (direita) e de plantas híbridas (esquerda), do híbrido C 701.

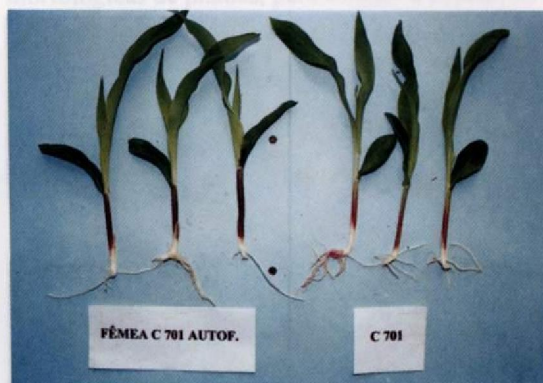


FIG. 4. Plântulas oriundas de sementes provenientes do parental fêmea autofecundado (esquerda) e de sementes híbridas (direita), do híbrido C 701.

intensa. Outra característica utilizada para a identificação das plântulas foi o vigor; geralmente, as plântulas híbridas apresentavam três folhas expostas e desenroladas, ao passo que as plântulas contaminantes apresentavam duas folhas expostas. Quando ocorriam dúvidas quanto à coloração da bainha da primeira folha, esta característica auxiliava na identificação das plântulas.

No florescimento, características das flores femininas foram empregadas para a diferenciação. Plantas provenientes de autofecundação apresentavam estilo-estigmas com coloração vermelha intensa, enquanto os das plantas híbridas apresentavam coloração esverdeada ou rosada (Fig. 5). Outra característica utilizada nesse estágio foi a data de florescimento das plantas femininas; plantas híbridas floresciam três a quatro dias antes das plantas contaminantes.

Nas avaliações realizadas nas espigas, em colheita e pós-colheita, o tipo de grão foi a característica utilizada para a separação dos materiais. Espigas de plantas híbridas apresentavam grãos do tipo dentado, enquanto os das plantas contaminantes apresentavam grãos duros, como o indicado na Fig. 6.

Quanto ao híbrido C 901, as avaliações realizadas foram eficientes na separação, com exceção da avaliação realizada em espigas em pós-colheita. No estágio de plântulas, a característica utilizada foi a coloração entre as nervuras do coleótilo. Plântulas híbridas apresentavam coleótilo com coloração

arroxeadada, enquanto as contaminantes o apresentavam com coloração esverdeada, como indicado na Fig. 7. Para facilitar a avaliação, os coleótilos foram removidos das plântulas, para evitar que a coloração do mesocótilo pudesse interferir na identificação. No estágio de plântula, a avaliação apresentou índice de acerto de 95%, superior ao dos C 701 e C 425. A principal característica utilizada foi o vigor das plântulas. Por tratar-se de um híbrido simples, as plantas provenientes de sementes oriundas do parental fêmea autofecundado eram linhagens que, em geral, são pouco vigorosas, o que facilitou a sua separação das demais. As plantas contaminantes apresentavam-se com menor altura

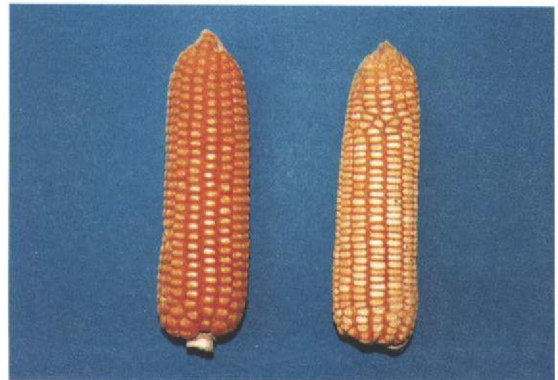


FIG. 6. Espigas oriundas de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado (esquerda) e de plantas híbridas (direita), do híbrido C 808 A.



FIG. 5. Estilo-estigmas oriundos de espigas de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado (direita) e de plantas híbridas (esquerda), do híbrido C 808 A.



FIG. 7. Coleótilos oriundos de plântulas provenientes do parental fêmea autofecundado (esquerda) e de plantas híbridas (direita), do híbrido C 901.

e diâmetro do colmo. A diferença de vigor, entre plantas híbridas e contaminantes, persistiu durante o ciclo da cultura, facilitando as avaliações subseqüentes. No florescimento, as plantas contaminantes apresentavam estilo-estigmas com coloração esverdeada ou rósea clara, enquanto as plantas híbridas apresentavam estilo-estigmas com coloração avermelhada. O florescimento feminino, das plantas híbridas, foi mais precoce do que o das plantas contaminantes.

A avaliação na fase de colheita foi realizada considerando o vigor das plantas, uma vez que os grãos das plantas eram, invariavelmente, dentados (Fig. 8). Houve diferença entre o tamanho das primeiras espigas das plantas híbridas e contaminantes. No entanto, quando as plantas híbridas apresentavam a segunda, muitas vezes esta não se diferenciava da espiga da linhagem. Isso, provavelmente, terá contribuído para a redução do acerto na avaliação em espigas (81,7%). Este resultado mostrou que a avaliação das plantas pode ser, além da de espigas, importante para a identificação de plantas em final de ciclo. A avaliação, nesse híbrido, foi mais eficiente na colheita, do que em pós-colheita, ocasião em que algumas características da planta, como o vigor, não foram avaliadas.

Em um programa de controle de qualidade na produção de sementes de milho, é mais interessante a identificação de contaminantes no estágio de plântulas, por permitir a análise da pureza genética

após a colheita e antes da comercialização das sementes. No entanto, a avaliação em estádios mais avançados permite a aferição do trabalho de despendoamento nos campos de produção, que, inclusive, pode orientar alterações metodológicas em safras subseqüentes. Principalmente nos híbridos C 808 A e C 901, a avaliação da pureza genética no estágio de plântula mostrou-se relativamente precisa.

Características selecionadas na presente pesquisa para a identificação de plantas, tais como as cores dos estilo-estigmas, da antera e do grão, foram apontadas por Smith & Smith (1989) como sendo de alta repetibilidade em vários locais e anos. Dessa maneira, parece válida a utilização dessas características como descritores de genótipos de milho, para avaliação da pureza genética.

Apesar de alguns autores terem enfatizado a ocorrência de variações na pigmentação em várias partes das plantas, dificultando a identificação de cultivares de milho (Srivastava & Agrawal, 1985; Styles, 1993), os resultados obtidos no presente trabalho mostraram-se promissores principalmente nos híbridos C 701, C 901 e C 808 A. A possibilidade de utilização de características morfológicas para avaliação de pureza genética deve ser estudada em cada híbrido. Como foi abordado por Smith & Smith (1989), a variabilidade em cada população híbrida depende sobretudo da diferença genética entre as linhas parentais.

Smith & Wyck (1984) fizeram comparações entre os usos da eletroforese e das características morfológicas de plantas, para estimar a contaminação de sementes provenientes do parental fêmea autofecundado em lotes de sementes híbridas de milho. Os autores basearam-se, principalmente, na estimativa do vigor das plantas nos estádios de cinco a sete folhas e na antese. Na presente pesquisa, no florescimento a observação da coloração das flores masculinas e femininas foi mais adequada que a observação do vigor de plantas. Ainda sobre o trabalho de Smith & Wyck (1984), vale ressaltar que não foi computada a taxa de erro ocorrida durante as avaliações. Assim, plantas híbridas podem ter sido computadas como contaminantes, uma vez que não houve os controles de posição e do número de plantas contaminantes nas parcelas experimentais.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados do teste de qui-quadrado, utilizado para verificar a



**FIG. 8.** Espigas oriundas de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado (esquerda) e de plantas híbridas (direita), do híbrido C 901.

**TABELA 2.** Resultados do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) aplicados aos dados de identificação de plantas provenientes do parental fêmea autofecundado de diferentes híbridos, em várias épocas de avaliação, obtidos por três avaliadores.

Híbrido	Avaliador	Época de avaliação				
		Plântulas	5-7 folhas	Florescimento	Colheita	Pós-colheita
C 701	1	0,10	3,11	0,69	1,03	0,11
	2	0,40	2,79	0,08	1,03	0,11
	3	0,00	2,49	0,05	0,21	0,01
	$\chi^2$	0,50NS	8,39*	0,82NS	2,27NS	0,23NS
C 425	1	3,60	14,49	19,21	13,23	16,20
	2	4,90	13,21	13,11	15,21	12,01
	3	4,60	13,79	30,01	19,04	12,80
	$\chi^2$	13,10**	41,49**	62,33**	47,48**	41,01**
C 808 A	1	0,00	2,45	0,03	0,69	0,01
	2	0,00	4,10	0,21	0,14	0,11
	3	0,10	1,91	0,54	1,43	0,01
	$\chi^2$	0,10NS	8,46*	0,78NS	2,26NS	0,13NS
C 901	1	0,00	0,03	0,08	0,08	1,51
	2	0,00	0,03	0,00	0,03	6,61
	3	0,10	0,01	0,08	0,01	1,25
	$\chi^2$	0,10NS	0,07NS	0,16NS	0,12NS	9,37**

\*\* Significativo a 1 % de probabilidade.

\* Significativo a 5 % de probabilidade.

NS - Não-significativo.

significância dos desvios entre os resultados obtidos pelos três avaliadores.

Nos híbridos C 701 e C 808 A, apenas o resultado dos desvios observados no estágio de cinco a sete folhas foi significativo. Os desvios observados nos demais estágios, não-significativos, indicaram que os erros foram devidos ao acaso (erro amostral).

No híbrido C 425, os resultados de qui-quadrado encontrados foram significativos a 1% de probabilidade em todas as épocas de avaliação e no híbrido C 901, houve significância dos desvios na avaliação, realizada em espigas na pós-colheita. Nestes casos, os erros não foram devidos ao acaso, e sim, a outras causas, como, por exemplo, a ausência de características morfológicas diferenciais.

Comparando os resultados obtidos no teste de qui-quadrado (Tabela 2) com os das taxas de acerto e erro (Tabela 1), observou-se que nas épocas em que os desvios foram significativos, corresponderam aos de menores taxas de acerto. Assim, as características morfológicas permitem a identifica-

ção dos genótipos, com alto índice de acerto, e pode ser esperada a ocorrência de baixos valores de qui-quadrado, indicando variações aceitáveis entre os resultados obtidos pelos avaliadores.

## CONCLUSÕES

1. É viável a utilização de marcadores morfológicos para avaliação da pureza genética em alguns híbridos de milho.

2. A fase de desenvolvimento das plantas de milho, mais adequada para a avaliação da pureza genética, varia com o híbrido.

## REFERÊNCIAS

BRINK, D.E.; PRICE, S.C.; NUGYEN, H.; FUREST, G.; MARTINEZ, C. Genetic purity assessment of commercial single cross maize hybrids: Isoelectric focusing of zeins. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.17, p.91-98, 1989.

CARDY, B.J.; KANNENBERG, L.W. Allozymic variability among maize inbred lines and hybrids:



- applications for cultivar identification. *Crop Science*, Madison, v.22, p.1016-1020, 1982.
- CRAIG, W.F. Production of hybrid corn seed. In: SPRAGUE, G.F. (Ed.). *Corn and corn improvement*. Madison: American Society of Agronomy, 1977. p.671-679.
- DAMEVAL, C.; HEBERT, Y.; VIENNE, D. Is the polymorphism of protein amounts related to phenotypic variability? A comparison of two dimensional electrophoresis data with morphological traits in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.74, p.194-202, 1987.
- DITMER, W.P. Varietal determination made in the seed laboratory. *Journal of Seed Technology*, Zürich, v.3, n.2, p.42-47, 1979.
- EDNIE, A.V.; DHESI, N.S.; PAUKENS, J. Cultivar verification testing as an integral part of seed testing in Canada. *Journal of Seed Technology*, Lansing, v.3, n.2, p.49-56, 1978.
- GOODMAN, M.M.; PATERNIANI, E. The races of maize. III. Choices of appropriate characters for racial classification. *Economic of Botany*, New York, v.31, p.256-271, 1969.
- GOODMAN, M.M.; STUBER, C.W. Genetic identification of lines and crosses using isoenzyme electrophoresis. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 35., 1980, Washington. *Proceedings...* Washington: American Seed Trade Association, 1980. p.10-30.
- HUTCHCROFT, C.D. Contamination in seed fields of corn resulting from incomplete detasseling. *Agronomy Journal*, Madison, v.51, p.267-271, 1959.
- JOHNSON, I.J.; MILLER, E.S. Immediate effect of cross pollination on the carotenoid pigments in the endosperm of maize. *Cereal Chemistry*, St. Joseph, v.16, p.88-92, 1939.
- KORANYI, P. Characterization of maize (*Zea mays* L.) seed samples by the electrophoretic patterns of their protein monomers. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.10, p.153-159, 1989.
- MCDONALD JUNIOR, M.B. Validation of starch gel electrophoresis for corn seed purity determinations. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 45., 1990, Washington. *Proceedings...* Washington: American Seed Trade Association, 1990. p.43-53.
- NUCCA, R.; SOAVE, C.; MOTTO, M.; SALAMINI, F. Taxonomic significance of the zein isoelectric focusing pattern. *Maydica*, Bergamo, v.23, p.239-249, 1978.
- OTTOBONI, L.M.; STEFFENSEN, O.M. Localization of zein genes in maize. *Biochemical Genetics*, New York, v.25, p.123-142, 1989.
- PAUKSENS, J. Determination of cultivar. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.6, p.579-583, 1978.
- PAUKSENS, J.; DHESI, N.S. Cultivar verification methods used in Canada. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.6, p.585-592, 1978.
- PAYNE, R.C. Variety testing by official AOSA seed laboratories. *Journal of seed Technology*, Lansing, v.10, n.1, p.24-36, 1986.
- PIMENTEL-GOMES, F. *Curso de Estatística Experimental*. 12.ed. Piracicaba: ESALQ-USP/ Nobel, 1987. 466p.
- RAMALHO, M.A.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B. *Genética na agropecuária*. Lavras: FAEPE, 1990. 359p.
- SCHMIDT, J.W. A plant breeder looks at the problem of distinguishing varieties. *Journal of Seed Technology*, Lansing, v.3, n.2, p.57-60, 1979.
- SMITH, J.S.C.; SMITH, O.S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica*, Bergamo, v.34, p.151-161, 1989.
- SMITH, J.S.C.; WYCK, R.D. The identification of female selfs in hybrid maize: a comparison using electrophoresis and morphology. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.14, p.1-4, 1984.
- SMITH, S.; WEISSINGER, H. Rapid monitoring of purity in seed lots of hybrid maize: modifications of current technologies. *Maize Genetics Cooperation News Letter*, Bloomington, v.58, p.103-105, 1984.
- SRIVASTAVA, J.M.; AGRAWAL, B.D. Phenotypic variability in parental lines of some released maize hybrids. *Seed Research*, New Delhi, v.13, n.1, p.8-15, 1985.
- STUBER, C.W.; WENDEL, J.F.; GOODMAN, M.M.; SMITH, J.S.C. *Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize*. Raleigh: North Carolina State University, 1988. 87p. (Technical Bulletin, 286).
- STYLES, E.D. Extending the expression of self-color R1-scw alleles in maize. *Maydica*, Bergamo, v.38, p.127-133, 1993.
- VON PINHO, E.V.R. *Consequências da autofecundação indesejável na produção de sementes híbridas de milho*. Piracicaba: USP-ESALQ, 1995. 130p. Tese de Doutorado.