

1974/001

AND

1974

TS-1974/001

EMELEOÇÍPIO BOTELHO DE ANDRADE
ENGENHEIRO AGRÔNOMO
EMBRAPA – IPEAN

FREQÜÊNCIAS DO GENE OPACO-2 EM DIFERENTES POPULAÇÕES
DE MILHO (*Zea mays* L.)

Orientador: Prof. Dr. JOÃO RÚBENS ZINSKY

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título de
Mestre.

PIRACICABA – SÃO PAULO
BRASIL

1974

Q
Biblioteca do IPEN
Cordisament
Emelcio B. Andrade
Belém, 21/01/75

EMELEOCÍPIO BOTELHO DE ANDRADE
Engenheiro Agrônomo
EMBRAPA - IPEAN



FREQUÊNCIAS DO GENE OPACO-2 EM DIFERENTES POPULAÇÕES
DE MILHO (Zea mays L.)

Orientador: Prof. Dr. JOÃO RUBENS ZINSKY

*Dissertação apresentada à
Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz" da
Universidade de São Paulo,
para a obtenção do título
de Mestre.*

PIRACICABA - SÃO PAULO
Brasil
1974

1/74
AND

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

A todos que de alguma forma contribuíram para sua realização, os nossos sinceros agradecimentos e de maneira especial ao:

Dr. João Rubens Zinsly pela sugestão do trabalho, orientação e ensinamentos.

Dr. Ernesto Paterniani, pelas sugestões e críticas construtivas na redação.

Dr. João Lúcio Azevedo pela co-orientação, críticas e orientação final, devido a viagem do Dr. João Rubens Zinsly para o exterior.

Dr. Geraldo Toselo pelas críticas e sugestões valiosas na redação final.

Dr. Almiro Blumenschein pelas facilidades concedidas como Diretor do Instituto de Genética.

Dr. Alfonso Wisniewski, ex-Diretor do IPEAN, pela oportunidade da especialização concedida.

Dr. Ítalo Claudio Falesi, Diretor do IPEAN, pelo apoio no transcorrer do curso.

Dr. Vicente Moraes, Coordenador de Pesquisas Fito-técnicas, pelo incentivo.

Conselho Nacional de Pesquisas pela concessão da bolsa de estudo durante todo o curso.

Biblioteconomistas Odette Simão pela revisão das ci
tações bibliográficas.

Sr. Walter Pompermayer e Mariano Aguado pela ajuda
na execução dos trabalhos de campo. Sebastião Muniz e Fátima
Dias pela datilografia. À Zélia, minha esposa, pela ajuda no
campo e laboratório, pela paciência, amor e incentivo.

S U M Ă R I O

	Pág.
<u>1 - INTRODUÇÃO</u>	1
<u>2 - REVISÃO DA LITERATURA</u>	3
<u>3 - MATERIAL E MÉTODOS</u>	10
<u>3.1 - MATERIAL</u>	10
<u>3.1.1 - Indígenas</u>	11
<u>3.1.2 - Comerciais</u>	11
<u>3.1.3 - Composto amplo</u>	13
<u>3.1.4 - Testador</u>	13
<u>3.2 - MÉTODOS</u>	13
<u>3.2.1 - Base genética</u>	13
<u>3.2.2 - Ensaio de campo</u>	14
<u>3.2.3 - Obtenção de dados</u>	15
<u>3.2.4 - Análise estatística</u>	16
<u>3.2.4.1 - Determinação de espigas hetero-</u> <u>zigóticas</u>	16
<u>3.2.4.2 - Teste de Homogeneidade</u>	16
<u>3.2.4.3 - Cálculo das frequências gênicas</u>	16
<u>3.2.4.4 - Equilíbrio de Hardy-Weinberg</u> .	17
<u>4 - RESULTADOS</u>	18
<u>5 - DISCUSSÃO</u>	24
<u>6 - CONCLUSÕES</u>	31
<u>7 - RESUMO</u>	32
<u>8 - SUMMARY</u>	33
<u>9 - LITERATURA CITADA</u>	34

10 - <u>TABELAS</u>	42
11 - <u>ANEXOS</u>	53

1 - INTRODUÇÃO

O deficit de proteínas e o estado de má nutrição protéica em que vive uma considerável porção da humanidade é tema por demais atual.

O milho é uma das principais fontes de alimentos, principalmente nos países do chamado terceiro mundo, sendo que nos países desenvolvidos este cereal é usado na transformação de proteína vegetal em animal, uma vez que é utilizado como ração.

Com a descoberta, no milho do mutante opaco-2 (gene- o_2), uma adicional fonte de proteína de boa qualidade ficou disponível pois este gene exerce uma drástica modificação na composição protéica do endosperma elevando sobremaneira o teor de certos aminoácidos essenciais, especialmente a lisina.

O método de retrocruzamento tem sido utilizado na transferência do gene opaco-2 para as linhagens comerciais e populações consagradamente de boa produção. Nestas últimas, um maior número de plantas deve ser empregado para que se possa manter as características genéticas das populações, sendo o tempo despendido na transferência um dos principais inconvenientes observados.

Alguns melhoristas tem obtido em seus trabalhos rotineiros de obtenção de linhagens, algumas sementes opaco-2, fruto de mutação espontânea do locus normal para opaco naquela linhagem. Tal ocorrência é altamente benéfica, uma vez que temos uma linhagem adaptada ao ambiente diferenciando-se apenas genotipicamente da original, neste locus mutado. Ocorrência de mutações espontâneas semelhantes em populações trariam igualmente os mesmos benefícios, pois ter-se-ia em apenas uma geração várias plantas destas populações diferindo apenas na presença do gene opaco-2.

A facilidade na obtenção de tais plantas seria proporcional à freqüência com que tais genes se encontrem nestas populações. Em virtude da taxa de mutação do gene normal para opaco-2 ser variável entre populações, é provável que a freqüência destes genes nestas populações seja também variável.

O objetivo do presente trabalho será o de determinar a freqüência de genes opaco-2 em várias populações comerciais e indígenas, as quais se originaram pela acumulação destas mutações no decorrer da evolução de cada uma delas e tentar explicar suas tendências. Esta informação possibilitaria ainda estimar o número mínimo de plantas a serem autofecundadas em um programa de obtenção de populações de milhos contendo o gene opaco-2, para se obter, pelo menos um mutante, o qual seria incorporado à população em um único ciclo de retrocruzamento.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

O milho constitui-se uma boa fonte de alimentos para os animais, uma vez que contém as classes fundamentais de nutrientes: carboidratos, proteínas, lipídios e ainda uma razoável quantidade de vitaminas e sais minerais (CAMPOS e NOGUEIRA, 1944; SODEK, 1973).

Nutricionistas do Instituto de Nutrição da América Central e Panamá, determinaram que 100 gramas de milho integral seco (10,6% de umidade), proporcionam ao homem: 360 calorias, 9,4g de proteínas, 4,3g de lipídios e 74,4g de carboidratos (C.P.C.I., 1971). Estes nutrientes estão dispersos de modo heterogêneo no grão. O endosperma corresponde a 82% da semente, em média, e deste, 85% é ocupado por carboidratos. Os lipídios na forma de óleo de boa qualidade, concentram-se no embrião perfazendo 35% deste. A proteína do milho é baixa em quantidade em relação às leguminosas, porém alta comparando-se aos tubérculos (NOLBERGA, 1967), estando quase completamente restrita ao endosperma, havendo uma variabilidade em seu teor de 6,7% a 12,8% (QUAST, 1966), dispondo-se hoje de variedades selecionadas com teores acima de 20% (WOODWORTH, LENG e JUGENHEIMER, 1952).

O papel desempenhado pelas proteínas no metabolismo e desenvolvimento dos seres vivos é por demais conhecido, vindo sua carência nutricional constituir-se num dos mais sérios problemas de nutrição da atualidade (FAO, 1970).

Infelizmente a proteína do milho é de baixo valor biológico, devido ao teor insuficiente dos aminoácidos lisina e triptofano, considerados essenciais na nutrição dos animais monogástricos.

Tal ocorrência tem sido imputada à zeína, a fração de prolamina da proteína do milho, que corresponde aproximadamente a 50% do total protéico (NELSON, 1969).

Considerável esforço tem sido despendido desde o século passado, no sentido de se modificar esse quadro, na tentativa de elevar o teor de proteína e melhorar sua qualidade, quer por melhoramento genético (HAYES e GARBER, 1919; EAST e JONES, 1920; FREY, BRIMHALL e SPRAGUE, 1949a; WOODWORTH et al, 1952), quer por melhoramento ambiental (PRINCE, 1954; ZUBER, SMITH e GEHRKE, 1954; LANG, PENDLENTON e DUNGAN, 1956).

Apesar de se ter conseguido altos teores de proteína, seu valor biológico permanecia baixo, uma vez que, a seleção se baseava em termos de proteína bruta e esta era positivamente correlacionada com a zeína (FREY, et al. 1949a; MILLER, HURST e BRIMHALL, 1952). MITCHELL, HAMILTON e BEADLES (1952), determinaram que aumentos no teor de proteína ocasionam aumentos significantes na fração protéica de valor biológico mais pobre: a zeína. Em milhos com 14% ou mais de proteína, um acréscimo de 1% no total protéico corresponde a um aumento proporcional de 5,2 unidades percentuais no teor de zeína.

Apesar do caráter teor de proteína ser regulado por aproximadamente 22 genes (FREY, 1949), sua herdabilidade é relativamente alta ($h^2 = 0,660$) e a sua correlação com o teor de zeína elevado ($r = 0,901$), (CABULEA e ZETEA, 1972).

Desde que eram conhecidos alguns detalhes gerais da síntese de proteínas no citoplasma dos cereais e, particularmente no milho, os possíveis corpos onde se depositava a zeína (DUVICK, 1955 e GRAHAN et al, 1962), e baseados ainda nas recentes descobertas da ultra-estrutura do gene, decifração do código genético e síntese de proteínas a partir do DNA, os melhoristas se conscientizaram de que uma modificação no padrão protéico no grão de milho, somente seria possível através de uma modificação, espontânea ou induzida, no material genético que condiciona este caráter (NELSON, 1969).

Os modernos aparelhos e requintados métodos de análise bioquímica, propiciaram a que se fizesse um levantamento do material de milho disponível no Banco de Germoplasma da

Universidade de Purdue. A princípio foram utilizados milhos que apresentassem genes modificadores do endosperma.

A 18 de novembro de 1963, coube a LYNN BATES, encarregado do programa de determinação da composição de aminoácidos, nas diferentes variedades de milho, determinar que o mutante opaco-2 apresentava um acentuado diferente padrão na composição dos aminoácidos, onde a lisina se apresentava 69% mais elevada que nos milhos normais, o triptofano sensivelmente mais alto e a leucina baixava drasticamente (MERTZ, BATES e NELSON, 1964). Esta significativa modificação se deve, não ao aumento no teor protéico, mas a uma modificação nos teores das diversas frações da proteína. O teor de zeína é diminuído em detrimento das outras frações protéicas, ricas em lisina, mormente a glutelina (JIMENEZ, 1966; PIVA, SALAMINI e SANTI, 1967; SODEK e WILSON, 1971; MURPHY e DALBY, 1971; QUICKE e GEVERS, 1972).

O milho opaco-2 é um mutante do endosperma, descrito por SINGLETON e JONES na década de 30 (EMERSON, BEADLE e FRASER, 1935), tem um fenótipo opaco, farináceo e pouco ou nenhum amido córneo sendo bastante semelhante ao gene floury-2 reportado por MUMM, em 1929, o qual também apresenta modificações vantajosas na composição de aminoácidos (NELSON, MERTZ e BATES, 1965). É completamente recessivo e tem sido usado apenas como marcador genético. Está localizado no cromossoma 7, num grupo de ligação composto por 17 genes conhecidos e 2 translocações (Maize Gen. Coop. 1939).

O elevado valor biológico do milho opaco-2 foi comprovado em testes com animais. Em ratos, mostrou um ganho de peso 3,5 vezes superior ao normal e seu Índice de Eficiência Protéica (PER), é igual ao do milho normal mais farinha de soja, e superior a qualquer cereal cultivado (MERTZ et al. 1965 e 1966; PIVA et al., 1967 e QUICKE et al. 1972). Em porcos os resultados são excelentes (PICKETT, 1966; CROMWELL, PICKETT e BEESON, 1967; KRONKA, 1968; COSTA et al. 1971). Em aves os resultados são pouco animadores, apesar de se ter mostrado

superior ao milho normal, porém inferior a tradicional dieta: milho normal mais farinha de soja (FONSECA, 1970). Deve haver nele algum elemento que o torna menos eficiente na alimentação de aves em relação aos mamíferos. Recentemente (HALIM, WASSON e MITCHELL, 1973), foram determinados mais altos teores de inibidores da tripsina no milho opaco-2 que no normal. Se as aves forem mais sensíveis a estes inibidores que os mamíferos, talvez este seja o problema a ser contornado. A produção de ovos de galinhas alimentadas com milho opaco-2, foi mais elevada que a normal, porém, o tamanho destes é mais reduzido (TAFURI et al, 1971), bem como a gema se apresentou mais descorada. Em seres humanos, o milho opaco-2 tem se mostrado eficiente na recuperação de crianças com hipoproteïnemia (AMORIM, 1971). BRESSANI, 1966, no tratamento de crianças, estabeleceu que a proteína do milho opaco-2 é qualitativamente tão boa quanto a da caseína do leite. Resultados semelhantes foram obtidos por CLARK, 1966.

Apesar de alguns inconvenientes quanto a produção e aparência do grão (ALEXANDER, 1966), o gene opaco-2 tem sido incorporado a diversas populações e linhagens de milho e a partir destas, um criterioso estudo e trabalhos de seleção têm sido realizados (INGLE, BEITZ e HAGEMAN, 1965; LAMBERT, ALEXANDER e DUDLEY, 1969; LORENZONI et al, 1969 e 1971; GRUPTA, ASNANI e KHARE, 1970; NASS e CRANE, 1970; SALAMINI, BORCHI e LORENZONI, 1970; FEIST e LAMBERT, 1970; GROGAN e FRANCIS, 1971; SARAIVA, ANDERSON e ALMEIDA, 1972).

O método de retrocruzamento tem sido amplamente utilizado como meio de transferir o gene para outras populações e linhagens. Entretanto, para se obter uma recuperação satisfatória do genótipo recorrente, um mínimo de quatro ciclos deve ser realizado. Além disso, genes indesejáveis acompanham o mutante, devido a uma estreita ligação.

ALEXANDER, DUDLEY E LAMBERT, 1971, ensaiando híbridos obtidos de linhagens opaco-2, resultantes de uma geração

de retrocruzamento e comparando-os com híbridos normais cor respondentes, observaram que os primeiros, produziram em mé dia, 85% em relação aos segundos. As mesmas linhagens, agora na 4a. geração de retrocruzamentos, foram novamente compa ra das com os híbridos normais. Os híbridos opaco-2 produziram 92% em relação aos normais. O aumento de produção foi presumi do ser consequência das gerações adicionais de retrocruzamento.

NELSON reportou ter encontrado um mutante opaco-2 (o_2) na linhagem W64A, a qual, supostamente, difere apenas da linhagem supracitada com relação ao locus opaco-2 (NELSON, MERTZ e BATES, 1965).

DRUMOND (1971), encontrou no curso da obtenção de linhagens, em uma população cateto, para produção de híbridos, grãos segregando para endosperma farináceo, o qual por teste, foi evidenciado tratar-se de mutante opaco-2. Igualmente RI BEIRAL citado por DRUMOND (1972), encontrou a mesma mutação em outra linhagem.

Tais mutações expontâneas, são de especial valor uma vez que o grão apresenta a mesma base genética da popula ção ou linhagem a ser utilizada em trabalhos de melhoramento, diferindo apenas no locus opaco-2 e já adaptada às condições ambientais locais.

PATERNIANI, 1971, tem considerado que existe uma grande quantidade de raças indígenas de milho que apresentam o fenótipo opaco, não se conhecendo muita coisa sobre sua com posi ção bioquímica. No milho da raça Entrelaçado, houve uma variação de 5,35% a 12,38% nos níveis de proteína e 1,06g a 2,68g de lisina por 100g de proteína. Outros apresentaram 2,69g de lisina por 100g de proteína ou mais. Tais milhos po dem inclusive conter o gene floury-2 que igualmente melhora o teor de lisina. Como as populações são heterogêneas e heterozigotas para estes genes, o simples exame de espiga impede

detectar as diferenças, devido a recessividade destes mutantes. É sugerida a autofecundação das espigas a fim de discriminá-las. ÁVILA (comunicação pessoal), em estudos de levantamento de frequências de genes opaco-2 em populações bolivianas, tem encontrado que grande parte do seu material farináceo, é geralmente devido ao gene mutante floury-1.

A taxa de mutação do gene opaco-2 normal (O_2) para o mutante (o_2), é variável de acordo com a população e portanto, devem apresentar uma frequência de genes opaco-2 (o_2), tambem variável (LAMBERT e ALEXANDER, 1968). O mesmo autor determinou como sendo 1:300.000 a taxa de mutação aproximada do gene $O_2 \rightarrow o_2$. Logo, considerando-se constante a taxa de mutação, na geração seguinte haverá uma frequência de heterozígotos de 1:150.000.

Em trabalhos sobre frequência de genes em populações de milho, uma ampla variação de valores tem sido verificada entre as populações. Isto provavelmente devido a influência da base genética das populações sobre a taxa de mutação destes genes.

EDWARDSON (1955), estabeleceu que 59,6% das populações latino-americanas, apresentam genes restauradores da fertilidade e a frequência de tais genes em linhagens da América do Norte é de 10,5%.

GONZALEZ (1971), estudando a frequência de genes restauradores da fertilidade em 30 raças e variedades de milho, encontrou 26,4% das variedades, apresentando plantas com o gene restaurador da fertilidade (Rf_1) em estado homozigoto, 75% das variedades apresentaram famílias segregando na proporção de 3 férteis para 1 estéril e todas as variedades apresentaram o gene em estado heterozigoto. As plantas do grupo Flint originárias de Cuba e Colômbia, apresentaram as maiores frequências dos genes restauradores da fertilidade e os milhos de germoplasma Tuxpeño, a menor frequência dos mesmos. Os

diversos grupos raciais apresentaram variação na frequência destes genes.

ÁVILA (1971), estudando a presença de genes opaco-2 em 22 populações bolivianas do vale andino, determinou que 2 populações Checchi e Maiz de Tostar, apresentavam o gene em condições heterozigótica, sendo suas frequências de 45% a 48% respectivamente. A variedade Kalbia, apresentava os genes no estado homozigótico, logo, com frequência 100%. A variedade Cordillera apresentava grãos metade opaco metade translúcidos, sendo que estes, por análise química continham aproximadamente o mesmo teor de lisina que os completamente opacos, sendo considerados como opaco-2 e então, a população apresentava o gene no estado heterozigótico numa frequência de 47%. As três primeiras populações eram de grão farináceo; a última de grãos dentados. As variedades com grãos duros, Sacarata e Tunicata, não apresentaram qualquer presença do gene opaco-2.

3 - MATERIAL E MÉTODOS



3.1 - MATERIAL

O material utilizado neste trabalho é constituído de dezesseis populações de milho, todas provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Estas populações estão dividas em 3 classes: 5 indígenas, 10 comerciais e 1 composto amplo, das quais foi retirada uma amostra, ao acaso, de sementes e feita a determinação de plantas heterozigóticas.

O seguinte significado será dado para as três classes de populações:

Indígena:- São populações primitivas e cultivadas pelos indígenas, geralmente de grãos amiláceos e de baixa productividade

Comerciais:- São aquelas obtidas do campo de agricultores, apresentando uma productividade relativamente boa.

Composto Amplo:- É resultante da combinação das populações comerciais e indígenas e de ampla variabilidade genética.

A escolha destas classes populacionais se baseou no fato de que sua diversidade de origem nos permitisse a tentativa de uma explicação dos resultados que possam ser obtidos.

PATERNIANI (1968), apresenta uma breve descrição de algumas das populações, as quais apresentamos a seguir:

3.1.1 - Indígenas

Lenha - grãos amiláceos, brancos com florescimento em torno de 68 dias, espigas curtas. Material proveniente de uma única amostra obtida no Rio Grande do Sul.

Entrelaçado - grãos amiláceos segregando sementes brancas, aleurona roxa e pericarpo variegado a vermelho, florescimento em torno de 88 dias.

Guarani Composto - grãos amiláceos de coloração amarela, florescimento em torno de 75 dias, espigas algo cônicas. Formado pela combinação de amostras provenientes do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso, Pernambuco, Paraguai e Bolívia.

Indígena Composto - formado pela combinação dos milhos indígenas acima e mais o Caingang Composto, outra variedade indígena.

Pipoca Indígena - Grãos duros, tipo pipoca, branco e amarelô, florescimento em torno de 70 dias. É o resultado da combinação de diversas variedades de milho pipoca indígena (ZINSKY, informação pessoal).

3.1.2 - Comerciais

Cateto Composto Argentina-Uruguai - grãos flint, laranja, florescimento com pouco mais de 60 dias. Tem baixa produtividade, mas apresenta caracteres interessantes, como prolificidade e altura da planta e da espiga baixa.

Centralmex - grãos semi-dentados, amarelos, florescimento em torno de 75 dias, geração avançada do cruzamento

América Central x Píramex, com posteriores seleções entre e dentro de famílias de meios-irmãos.

Dentado Composto - grãos dentados, coloração branca amarela, florescimento em torno de 75 dias. Composto de variedade das raças Tuxpeño e germoplasmas da América Central.

Flint Composto - grãos flint, coloração branca e amarela, florescimento em torno de 70 dias. Composto por germoplasma proveniente de Cuba, América Central, Colômbia e Brasil.

Cateto Colombia Composto - grãos flint, cor laranja, florescimento em torno de 75 dias. Formado pela combinação de 6 linhagens Cateto, 9 linhagens Colombia e 2 linhagens do programa mexicano.

Cateto Composto - grãos flint, laranja, florescimento em torno de 75 dias. Formado pela combinação de Catetos do Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Ceará e Paraguai.

Dente Paulista Mole - grãos dentados, amarelos, florescimento em torno de 75 dias. Corresponde ao primeiro ciclo para capacidade geral de combinação, sendo formado pela combinação de 17 linhagens S1 de grãos dentados.

Canário de Ocho Composto - grãos flint, laranja, florescimento em torno de 60 dias; espigas relativamente compridas, com oito fileiras simétricas de grãos. Combinação das variedades provenientes da Argentina e Uruguai.

Dente Cravo Composto - grãos amarelos, estreitos, espigas curtas com grande número de fileiras; florescimento em torno de 75 dias. Resultante da combinação de variedades do Rio Grande do Sul e São Paulo.

Pipoca Comercial - grãos pipoca, brancos e amarelos, florescimento em torno de 70 dias. Formado pela combinação de variedades pipocas comerciais, incluindo uma variedade proveniente da A. do Norte e com vários ciclos de seleção massal (ZINSLY, informação pessoal).

3.1.3 - Composto amplo

Grãos segregando amplamente, uma vez que é uma população constituída por milhos de grande diversidade e dos tipos comerciais e indígenas.

3.1.4 - Testador

Como testador masculino, foi usada a variedade Maya-opaco-2, obtida no IAC. É o resultado de 4 ciclos de retrocruzamento para incorporação do gene opaco-2 na população Maya que é uma variedade sintética de grãos dentados, amarelos, obtida da combinação de 14 linhagens originárias de Asteca, mais as linhagens Ip701, Tx303, PD(MS)6, uma linhagem Llera III, branca, Vera Cruz 226 e 227 (MIRANDA, informação pessoal).

3.2 - MÉTODOS

3.2.1 - Base Genética

Devido à completa recessividade do gene opaco-2, o caráter não se manifesta no endosperma da semente. Portanto, a determinação dos indivíduos heterozigotos para o gene considerado foi feita, utilizando o cruzamento das populações com um testador conveniente, e observados nas espigas sua segregação.

Um testador homozigoto recessivo, no caso, a variedade Maya-opaco-2, foi utilizada como polinizador das espigas das plantas, previamente despendoadas, das populações em estudo. Na colheita, uma segregação 1:1 nas espigas, indica tratar-se de uma planta heterozigota, uma vez que, um teste de alelismo está sendo empregado. Como tem sido observado amplamente, em outras variedades que conduzem o gene opaco-2, a variedade Maya-opaco-2, se mostrava com manchas de amido córneo no fundo opaco. Uma separação dos grãos completamente opacos, foi feita, sendo estes utilizados na sementeira, a fim de evitar possíveis dúvidas na segregação.

3.2.2 - Ensaio de campo

Um bloco isolado constituído de 1.500 plantas de cada população, distribuídos em três fileiras de 500 plantas, intercaladas por uma fileira de macho testador e afastadas de 1 metro, foi o delineamento adotado.

Cada população foi representada por 4.500 sementes escolhidas ao acaso, com ótimo poder germinativo, exceto as da população das variedades pipoca. A sementeira manual foi realizada em 3 etapas a fim de que as épocas de florescimento das populações coincidisse com a do testador. Primeiramente foi semeado o testador no dia 16 de outubro de 1972, principalmente em torno das fileiras em que seriam semeadas as variedades de florescimento mais curto; uma semana após (dia 23), foram semeadas todas as populações e o testador e uma semana mais tarde, o testador foi plantado em espaços alternados, nas fileiras em torno das populações de tempo de florescimento mais longo. Tal época de sementeira foi a mais indicada para se iniciar o cultivo de milho, na região Centro-Leste do Estado de São Paulo. O local utilizado foi a zona conhecida como Campestre, no Município de Piracicaba, distante 12 km da cidade do mesmo nome, a uma altitude de 556 metros a latitude 22° 43' S.

Foram utilizadas na semeadura, grupos de 3 sementes (na variedade pipoca utilizou-se 5), distanciados 30 cm no sulco previamente adubado e aberto com tração animal. Aos 15 dias foi efetuado o desbaste, permanecendo 1 planta por local semeado.

Por ocasião do florescimento, a medida que os pendões apareciam, foi realizado o despendoamento em todas as populações em estudo, permanecendo com o pendão, obviamente, apenas o testador masculino a fim de evitar a presença de quaisquer pólenes de plantas normais, os quais alterariam completamente a segregação nas espigas a serem estudadas.

3.2.3 - Obtenção de dados

Quando as espigas estavam secas, foi efetuada a colheita no campo, tomando-se uma espiga por planta de cada população e estas perfeitamente identificadas, foram levadas ao laboratório para verificar a segregação. Acondicionadas em esteiras de arame, que permitem boa aeração, as espigas foram expostas ao sol para secagem, uma vez que a umidade pode influir na observação por tornar os grãos opacos. Em seguida foram eliminadas aquelas atacadas por pragas e moléstias e as restantes sadias, foram debulhadas separadamente e os grãos acondicionados em sacos de papel, seguido do exame visual dos grãos, para verificação da segregação.

Um diafanoscópio, para assegurar uma perfeita discriminação dos grãos opacos e translúcidos (normais), foi empregado com vantagem. As espigas que apresentavam todos os grãos translúcidos, foram descartadas conservando-se apenas as que apresentassem segregação em grãos opacos e normais.

3.2.4 - Análise Estatística

3.2.4.1 - Determinação das espigas heterozigóticas

As espigas segregando grãos opacos e normais foram submetidas ao teste qui-quadrado, a fim de verificar sua adaptação à frequência esperada de 1:1, uma vez que se tratava de um cruzamento teste.

Os valores obtidos foram comparados ao valor tabelado, com grau de liberdade igual a um (1) e a um nível de 5% de probabilidade. Aquelas espigas, cujo valor dos desvios se encontrarem abaixo deste valor (3,841) serão consideradas como heterozigóticas, e aquelas que apresentarem valores superiores ou iguais ao valor tabelado, não serão consideradas como heterozigóticas, uma vez que os desvios que ocorrem com probabilidades menores que 5% são raros e seu aparecimento se deve, possivelmente, à agentes estranhos ao acaso e que estão influenciando na segregação esperada

3.2.4.2 - Teste de homogeneidade

Para a determinação da presença de fatores estranhos influenciando na segregação normal esperada de 1:1, nos cruzamentos das populações com testador, foi calculado um teste de homogeneidade para cada população. A somatória dos grãos opacos e normais foi efetuada e calculado o número de grãos esperados, sendo empregada a mesma fórmula do teste qui-quadrado, com grau de liberdade igual a um (1) e comparados à tabela ao mesmo nível de probabilidade anterior.

3.2.4.3 - Cálculo das frequências gênicas

Este cálculo foi efetuado utilizando-se a fórmula sugerida por FALCONER, (1960): $p = P + 1/2 H$, onde:

p = frequência do gene opaco-2

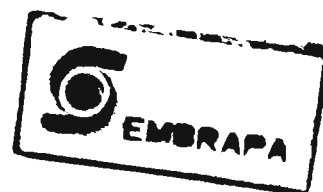
P = frequência dos genótipos homozigotos recessivos, resultantes do quociente entre o número de espigas completamente opacas e o número total de espigas da população.

H = frequência de genes heterozigotos, calculados do mesmo modo que P .

Nas populações onde não ocorreram espigas com todos os grãos completamente opacos, o cálculo das frequências foi feito utilizando-se a mesma equação, considerando-se p igual a zero.

3.2.4.4 - Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Para determinar se as populações se encontravam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, foram determinadas as frequências esperadas nas populações que apresentavam as três classes genotípicas bem como o número de plantas correspondentes. Esses valores (número de plantas), observados e calculados, foram submetidos ao teste qui-quadrado e comparados à tabela, ao nível de 5% de probabilidade com grau de liberdade igual a um (1).



4 - RESULTADOS

Devido a produtividade diferencial entre as populações e suscetibilidade a pragas e doenças, o número de espigas analisadas no laboratório variou grandemente. As populações Entrelaçado e Pipoca Comercial apresentaram um menor número de espigas, 333 em média, e as populações comerciais de grãos duros e dentados o maior número, 1.158 espigas em média, resultantes dos cruzamentos com o testador Maya-opaco-2.

Seis populações, das dezesseis estudadas, não apresentaram quaisquer segregações de grãos opacos e normais, indicando uma total ausência do gene opaco-2 nestas populações. Elas são: Pipoca Indígena, Cateto Colombia Composto, Cateto Composto, Canário de Ocho Composto, Composto Cateto Uruguai-Argentina e Pipoca Comercial, todas de grãos do tipo duro e correspondendo a 37,5% das 16 estudadas. As 10 populações restantes (62,5%), estão distribuídas nas três classes populacionais, sendo 4 pertencentes à classe das populações indígenas, 5 pertencentes à classe das populações comerciais e 1 à classe da população Composto Amplo. A Tabela 1 apresenta as percentagens de espigas segregando grãos opacos e normais. Note-se que as populações indígenas de grãos amiláceos mostraram uma tendência maior a apresentar segregação que as populações comerciais.

As tabelas A.1 até A.10 (Anexo) apresentam os valores de X^2 para cada espiga nas dez populações. É observada uma grande variabilidade quanto ao número de espigas apresentando segregação, desde apenas duas espigas na população Flint Composto a 368 espigas na população Indígena Composto, o que indica, por este motivo, uma variada frequência do gene opaco-2 nestas populações.

Um número considerável de espigas que não se adaptou à segregação esperada de 1:1 no teste qui-quadrado foi obser

vado. Na Tabela 2 temos uma visão de conjunto do número de espigas obtidas em todas as dezesseis populações estudadas resultantes do cruzamento com o testador Maya-opaco-2. É apresentado também o número de espigas com todos os grãos translúcidos, portanto homozigóticos para o gene normal (+++), sendo que a predominância deste tipo se concentra na classe comercial, atestado por suas percentagens em relação ao total. As espigas segregando grãos opacos e normais estão separadas por um sinal de adição, estando à esquerda o número daquelas que se adaptaram à segregação esperada de 1:1, através do teste qui-quadrado (não significativo), logo heterozigóticas para o gene em questão, e à direita as espigas cuja segregação apresentou resultado significativo no teste. As populações indígenas apresentaram maior quantidade de espigas segregando grãos opacos e normais. Entretanto, aquelas cujo resultado ao teste qui-quadrado apresentaram não-significância é bem superior àquelas cujo resultado ao mesmo teste apresentaram-se significativas. O inverso ocorre na classe das populações comerciais, pois além de apresentarem um reduzido número de espigas segregando grãos opacos e normais, o número de espigas cuja segregação apresentou-se significativa ao teste qui-quadrado, para a segregação esperada de 1:1, é maior que aquele onde o resultado ao teste foi não-significativo, exceto para as populações Dente Cravo Composto e Flint Composto.

As espigas apresentando todos os grãos opacos, indicando serem homozigóticas recessivas para o gene opaco-2, só foram encontradas na classe de populações indígenas.

Considerando-se apenas as espigas segregando grãos opacos e normais, a Tabela 3 nos mostra a proporção com que ocorreram, considerando-se sua significância ao teste qui-quadrado. As populações da classe indígena foram as que apresentaram maior número de espigas segregando grãos opacos e normais na proporção esperada de 1:1, ou seja, de resultado não-significativo ao teste qui-quadrado (731 espigas) em relação

as que apresentaram resultados significativos (222 espigas), sendo que a população Indígena Composto apresentou o maior número de espigas, cuja segregação apresentou resultado não-significativo ao teste (281 espigas) ou resultado significativo (87 espigas).

Foi freqüente o aparecimento de grãos apresentando-se metade opaco metade translúcidos, apesar de se ter utilizado como testador apenas grãos completamente opacos. Entretanto, o número de espigas apresentando grãos com este fenótipo foi encontrado em maior quantidade nas espigas que não se adaptaram a freqüência esperada de 1:1 (significativos). Este aspecto fenotípico do grão, tem sido amplamente citado na literatura. Alguns trabalhos de análise bioquímica tem indicado que os setores translúcidos apresentam-se com idênticos teores de lisina que os setores opacos (PAEZ, HELM e ZUBER, 1969) ou mesmo com valores intermediários ao normal e opaco (ÁVILA, 1971). Outros autores entretanto discordam de tais resultados.

Uma vez que a significância em relação à freqüência esperada de 1:1 depende do número de grãos opacos e normais é de se supor que uma possível participação dos grãos de fenótipo metade opaco e metade translúcido seja responsável por este resultados significativo. A Tabela 4 apresenta o número de espigas considerando-se apenas as de resultados significativos que apresentaram maior quantidade de grãos opacos ou normais em cada população. Nas populações indígenas, o número de espigas apresentando maior quantidade de grãos opacos é superior aquelas apresentando maior número de grãos translúcidos, com exceção da população Entrelaçado. Novamente o quadro se inverte na classe das populações comerciais, onde o número de espigas apresentando maior número de grãos normais é sobejamente superior ao daqueles apresentando maior número de grãos opacos.

Desde que se esteja utilizando um testador homozigoto recessivo para o locus opaco-2 e supondo-se a ausência

de outros genes maiores e modificadores do fenótipo do endosperma, no testador, é de se esperar, devido ao teste de alelismo realizado, que quaisquer espigas segragando grãos opacos e normais se tratem de verdadeiros heterozígotos ($++/o_2$) e que fatores outros estejam influenciando para alterar a frequência esperada de 1:1.

A presença significativa de espigas cuja segregação não se adaptaram ao teste qui-quadrado, afetaram sobremaneira os resultados dos testes de homogeneidade realizados em cada população, o qual foi significativo como é mostrado na Tabela 5, com exceção da população Lenha. Isto pode indicar uma influência de fatores estranhos alterando a segregação esperada. Por outro lado (Tabela 6) o teste de homogeneidade levado a efeito em todas as populações, considerando-se somente as espigas que apresentaram resultados não significativos, não apresenta qualquer significância para as populações da classe indígena, sendo que na classe das populações comerciais apenas as populações Centralmex e Dente Paulista apresentaram resultados significativos.

Em cada população foi calculada a percentagem de grãos opacos por espigas e ordenadas em classes percentuais com intervalo de classe de 10 unidades variando de zero a cem. Na Tabela 7 observamos esta distribuição, onde se evidencia uma tendência nas populações indígenas de concentrarem maior número de espigas nos intervalos entre 40-50 e 50-60, ou seja, em torno dos valores percentuais médios e também nos valores extremos.

Nas populações comerciais, não ocorreram os valores de 100% de grãos opacos e a mesma concentração nos valores médios foi evidenciada. Nas quatro populações indígenas: Lenha, Entrelaçado, Guarani Composto e Indígena Composto, desde que se dispunham de espigas homozigóticas normais ($++/+$) representadas pelas espigas apresentando somente grãos completamente

translúcidos, espigas heterozigóticas ($++/o_2$), representado por aquelas segregando grãos opacos e normais e espigas homozigotas recessivas (o_2/o_2) que apresentavam todos os grãos completamente opacos, tentou-se verificar se as referidas populações se encontravam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, uma vez que o número de indivíduos era uma amostra representativa da população e que as mesmas vinham sendo submetidas à várias gerações de intracruzamentos para atingirem a homogeinização (PATERNIANI, informação pessoal).

Ao serem utilizados como heterozigotos apenas as espigas com resultados não-significativos, as populações de monstraram não terem atingido o equilíbrio para o gene em questão, representado pela significância do teste qui-quadrado. Porém, ao serem adicionadas as espigas de resultados não-significativos àquelas espigas que apresentaram resultados significativos, as frequências observadas e esperadas, na base do número de plantas, o qual foi calculado através das frequências gênicas, o resultado mostrou-se não-significativo ao teste qui-quadrado (Tabela 8), isto indicando que a população deste modo se encontra no referido equilíbrio gênico. Este resultado nos oferece uma forte indicação adicional de que as espigas segregando grãos opacos e normais, que porém não se adaptaram à frequência esperada de 1:1, sejam na verdade espigas heterozigotas ($++/o_2$) e que fatores genéticos outros estejam influenciando neste resultado.

No cálculo da frequência de genes opaco-2 nas populações, utilizou-se tanto o total de espigas segregando grãos opacos e normais como apenas aquelas que apresentaram resultado não-significativo ao teste qui-quadrado. A Tabela 9 apresenta a frequência nos dois casos. A frequência do gene opaco-2 foi variável entre as populações. As maiores frequências foram encontradas nas populações da classe indígena nos dois casos considerados e as populações da classe comercial apresentaram frequência abaixo de 1%. A população Lenha se apre

sentou com a maior frequência (34,46%) sendo que a população Flint Composto apresentou a menor (0,07%).

Mesmo considerando-se como heterozigotas apenas as espigas que apresentaram adaptação à segregação esperada de 1:1 (não-significativas), ainda assim uma considerável presença do gene opaco-2 foi determinada.



5 - DISCUSSÃO

De acordo com os resultados apresentados, o método utilizado na detecção da presença de indivíduos heterozigóticos para o gene opaco-2, se mostrou satisfatório em relação a autofecundação das plantas das populações, principalmente considerando-se o custo e trabalho.

A ausência de um testador ideal se refletiu principalmente pelo aparecimento de segregações inconsistentes com a esperada de 1:1. Existiria uma remota, mas não improvável, possibilidade do testador conduzir genes, que à semelhança do opaco-2 também conferem um fenótipo opaco ao endosperma, como o floury-1, floury-2, opaco-1, opaco-4, opaco-7, etc. Entretanto, considerando-se que nos trabalhos rotineiros de melhoramento das populações de milho pipoca no Instituto de Genética da ESALQ, populações estas utilizadas no presente trabalho, uma freqüente e regular segregação de grãos de fenótipo opaco, tem sido observada nas espigas (ZINSLY, informação pessoal), tendo sido suposto dever-se ao gene opaco-2. Surpreendentemente, como observado nos resultados, estas populações não apresentaram quaisquer tipos de segregações, indicando que aquelas segregações observadas, não se devam ao gene opaco-2. Por outro lado, se o testador conduzisse, como foi aventado, os outros genes maiores modificadores do endosperma, as populações de milho pipoca deveriam apresentar uma segregação qualquer. Isto portanto pode confirmar a ausência de tais genes no testador e as outras segregações apresentadas nas populações devem ser devidas a outros fatores.

Ainda com relação às populações de milho pipoca, tais segregações de grãos opacos, deveriam ser posteriormente mais estudadas, utilizando-se testadores convenientes e determinar com segurança sua natureza genética, pois pode inclusive tratar-se de um gene desconhecido e de qualidades iguais ou melhores, em termos de composição de aminoácidos, que a do gene opaco-2, como ocorrido recentemente com a descoberta do

gene opaco-7 (MC WHIRTER, 1971). A frequência com que tais segregações tem aparecido nestas populações, é suficientemente elevada para considerar-se o número de espigas analisado neste trabalho, como erro de amostragem.

Tem sido amplamente observado e citado na literatura, espigas apresentando uma segregação bastante diferente da esperada. A consideração de tais espigas como heterozigotas, se baseia na opinião aceita, de que genes modificadores do fenótipo do grão junto ao gene opaco-2 estejam ativamente atuando (PAEZ, et al, 1969).

Em trabalhos de retrocruzamentos conduzidos com a linhagem R803, para incorporação do gene opaco-2, a classificação dos grãos opacos tem sido dificultada devido a presença de grãos semelhantes ao normal e, ao serem extracruzados com um estoque facilmente classificável, tais grãos se apresentaram como verdadeiros opacos-2 (ALEXANDER, 1966). Portanto, é uma boa evidência de que genes modificadores comuns ao pai recorrente, tendam a obscurecer o fenótipo do grão. ÁVILA (1971) tem se referido ao mesmo fato em seus trabalhos, ao tentar detectar presença do gene opaco-2 em populações bolivianas de milho.

Nossos resultados por conseguinte, tem mostrado o mesmo padrão e não seria incoerente tomar-se as espigas ao teste qui-quadrado significativas, como verdadeiros heterozigotos, baseando-se no fato adicional de que o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, só foi verdadeiramente atingido ao serem estas espigas heterozigotas putativas, adicionadas às espigas comprovadamente heterozigotas.

FEIST, citado por ALEXANDER, LAMBERT e DUDLEY, (1969), tem encontrado aberrantes relações de segregação em F_2 , de grãos opacos e normais em diversas bases genéticas utilizadas. Cada população atuando de modo particular na aparência do grão. São propostas várias hipóteses para explicar o fenômeno: a) Presença de gene(s) modificador(es) afetando o fenótipo dos

grãos (o_2/o_2) segregantes de modo que apresentem um aspecto semelhante ao normal; b) Um fator gametofítico ligado aos loci opaco-2 e reduzindo assim a transmissão do alelo; c) Transmissão reduzida do alelo "per se". Estas hipóteses estão sendo atualmente averiguadas.

Com relação à primeira hipótese, desde que frequentemente tem sido observado segregação de grãos metade opaco, metade translúcido, é provável que em algumas bases genéticas, este efeito seja completamente eficiente atingindo inclusive a completa translucência do grão. A segunda hipótese pode ser também aceitável, uma vez que foi observado que nas populações indígenas, onde os grãos opacos não apresentaram problemas de segregação, o número de grãos opacos foi maior que os normais nas espigas putativas e inclusive podendo haver uma preferência para o pólen mutante, ocorrendo o inverso nas populações comerciais. A presença de tais fatores gametofíticos, é de extrema importância para produção de milho opaco-2 em escala comercial, pois devido à ausência do efeito de dose, o aumento do teor de lisina só se manifesta no tecido triplóide do endosperma com os três genes recessivos (BATES, 1966), e portanto a presença dos fatores gametofíticos, impediriam a fertilização por pólen estranho, ou seja, normal.

As espigas possivelmente heterozigotas, apresentaram uma ampla variação entre as populações estudadas, em relação às espigas comprovadamente heterozigotas. Isto indica que a presença e ação dos modificadores, é mais acentuada em umas populações que em outras. Por exemplo, as populações indígenas tenderam a apresentar tais espigas putativas em uma escala mais baixa que as comerciais. Semelhante fato poderia ser devido a que em milhares de gerações de seleção, nestas últimas populações essencialmente homozigotas para o alelo opaco-2 dominante (normal), muito seguramente ter-se-iam acumulado complexos modificadores os quais seriam menos desejáveis em uma população homozigota recessiva.

Novamente, a presença desses modificadores é de importância significativa na produção comercial do milho opaco-2, uma vez que alteram a expressão fenotípica do grão, tornando-os semelhantes aos normais, porém, com teor de lisina elevado (PAEZ, et al., 1969), eliminando o inconveniente da aparência pouco comerciável e baixa densidade que afetam sobretudo a produção. Um vasto programa visando estes genes modificadores, está sendo levado a efeito pelo CIMMYT, no México (EL PNDU..., 1970).

Apesar do cuidado com que foi efetuado o despendoamento, entretanto não é improvável que umas poucas plantas tenham sido mal despendoadas fornecendo pólen normal o qual afetaria a segregação esperada.

Foi constatada uma ampla variação nas frequências de genes opaco-2, entre as populações estudadas. Este resultado concorda com aqueles obtidos em outros trabalhos sobre frequências de genes, onde esta variação é amplamente observada (EDWARDSON, 1955; GONZALEZ, 1971).

As dez populações que apresentaram genes opacos-2 perfazem 62,50% das 16 estudadas e as 6 restantes, (37,50%), em que a presença do gene opaco-2 não foi detectada, correspondem a maioria (cinco) às populações da classe comercial. As populações indígenas apresentaram as maiores frequências destes genes, sendo que a população Lenha destacou-se com a maior frequência gênica do ensaio (34,46%) e a população comercial Flint Composto, com a menor (0,07%).

Considerando-se a frequência genotípica dos indivíduos que conduzem o gene opaco-2 nas população Lenha, a qual é de 0,141 para os indivíduos homozigóticos e 0,407 para os heterozigóticos, temos então a frequência fenotípica total dos indivíduos que conduzem o gene opaco-2 de 0,548 ou 54,8%. Isto nos permite dizer, que de cada cem indivíduos nesta população, existe uma grande probabilidade de aproximadamente

55 indivíduos apresentarem o gene referido e que em um hectare plantado na densidade recomendada (50.000 plantas), um total de 27.500 indivíduos conterão o gene opaco - 2. Se tomarmos por exemplo, dez plantas da população Lenha e autofecundá-las, existe a probabilidade de cinco plantas segregarem numa proporção de 3:1, em grãos normais e opacos respectivamente. Utilizando-se o mesmo cálculo para a população que apresentou a menor frequência, isto é a Flint Composto, sua frequência genotípica de indivíduos conduzindo o gene opaco-2 é de 0,0014 ou 0,14%. Em um hectare nas condições já expostas teríamos 70 plantas carregando o gene opaco-2. Para obtermos a segregação de 3:1 grãos normais e opacos, em pelo menos uma planta, teríamos que autofecundar, no mínimo 714 plantas.

A ausência e a relativa baixa frequência de genes opaco-2 nas populações de grãos de tipo vítreo (duro), concordam com os trabalhos de ÁVILA (1971), o qual não encontrou qualquer presença de genes opaco-2 em 4 populações de grãos deste tipo. Uma, das 3 populações estudadas de grãos dentados, foi observada a presença do mutante. O maior número de populações que o apresentavam, se encontrava na classe dos grãos do tipo farináceo.

Tem sido exatamente nas linhagens de grãos de tipo duro, que se tem primeiramente registrado o aparecimento de mutações espontâneas para o locus opaco-2 (NELSON, et al. 1965; BIANCHI et al. 1964; DRUMOND, 1971 e 1972). Adicionalmente, deve ser lembrado que o gene opaco-2 foi primeiramente descoberto em uma população de milho pipoca, portanto de grãos de tipo duro. O motivo pode ser devido a que, as populações comerciais tenham sofrido durante o decorrer de sua evolução, uma seleção para os grãos normais e sendo prontamente eliminado os grãos de aspecto opaco, por serem fora do tipo, dando normalmente preferência aos grãos duros, comercializáveis. Nas populações indígenas, é possível que a ausência de tal seleção, tenha concentrado estes genes no decorrer de sua evolução

e portanto, atestaram uma frequência mais alta. Outra alternativa, seria a própria variação da taxa de mutação do gene normal para o opaco-2 entre as variedades, como foi evidenciado (LAMBERT e ALEXANDER, 1968), a qual pode ser mais alta para as populações de grãos do tipo amiláceo, devido inclusive a presença, nestas bases genéticas específicas, de genes reguladores da taxa de mutação do gene opaco-2, que atuariam positivamente.

Não devemos contudo esquecer que os Índios, tem da do sempre preferência à populações de milho de grãos do tipo amiláceo, e que uma possível seleção para este tipo de grão, pode ter sido realizada pelos mesmos. WELLHAUSEN (1966), observa que os Índios ofereceram forte resistência à aceitação de milhos de endosperma do tipo duro. É provável que uma população, se alimentando diretamente de milho, tenha naturalmente descoberto no decorrer das gerações, que seus filhos se desenvolveram mais satisfatoriamente, quando alimentados com estes tipos de grãos escolhendo-o para o seu consumo, mesmo a despeito da baixa produção e forte suscetibilidade ao ataque de pragas e doenças. E ainda pergunta, se tais milhos amiláceos não conteriam os genes opaco-2 ou floury-2.

A disponibilidade de populações apresentando certa frequência de genes opaco-2 é altamente promissora, pois a partir das mesmas será possível através de métodos adequados obter populações ou linhagens de milho opaco-2 completamente adaptadas aos ambientes em que estas são cultivadas, propiciando aos agricultores cultivares com melhores padrões proteicos. Por outro lado, a presença de modificadores junto ao gene opaco-2 que tendem a torná-los translúcidos é um fator adicionalmente benéfico, pois abrem-se perspectivas alentadoras, uma vez que os mesmos podem ser selecionados no sentido de se obter tipos de grãos o mais possível semelhantes ao normal, os quais terão como resultados produções mais elevadas. melhor resistência ao ataque de pragas e por conseguinte a plena aceitação por parte dos agricultores, os quais até o momen

to tem mostrado pouco interesse em cultivá-lo.

Em termos gerais o presente trabalho foi eficiente em determinar as freqüência dos genes opaco-2 nas populações estudadas, pois mesmo não se considerando a presença das espigas que se afastaram da segregação esperada, ainda assim uma freqüência significativa pôde ser evidenciada.

6 - CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados neste trabalho, as seguintes conclusões podem ser tiradas:

a) As populações indígenas, de grãos amiláceos, apresentaram maior frequência de genes opaco-2 que as populações comerciais de grãos de tipo duro e dentado.

b) A presença de segregações inconsistentes com a esperada de 1:1 nos cruzamentos do testador Maya-o2 com os possíveis heterozigotos, sugere a presença de genes modificadores que alteram o fenótipo dos grãos opacos, tornando-os semelhantes aos grãos translúcidos.

c) Tais genes modificadores são mais efetivos nas populações comerciais que indígenas, isto talvez devido ao grande número de gerações sofrendo seleção para o tipo de grãos normais nas primeiras.

d) Houve uma ampla variação na frequência de genes opaco-2 entre as dez populações que apresentaram espigas segregando e as seis restantes das dezesseis totais (37,5%), não apresentaram qualquer presença do gene e destas, cinco percentem as populações comerciais.

e) Dada a eficiência do método utilizado neste trabalho, seria interessante toma-lo como base para estudos semelhantes, onde se deseja detectar a presença de outros mutantes.

7 - RESUMO

Em 16 populações de milho, sendo 10 Comerciais, 5 Indígenas e 1 Composto Amplo, pertencentes ao Banco de Germoplasma do Instituto de Genética da ESALQ, foram determinadas as frequências de genes opaco-2. A população Maya-opaco-2, homozigótica recessiva para este gene, foi utilizada como testador e cruzada com as populações previamente despendoadas, num teste de alelismo. A detecção das espigas heterozigóticas nas populações foi efetuada, utilizando-se ao teste qui-quadrado, adaptado à frequência esperada de 1:1. Dez populações, sendo 4 Indígenas, 5 Comerciais e a Composto Amplo, apresentaram frequências gênicas para o gene opaco-2 que variaram de 34,46% a 0,07%. É feita uma tentativa de se explicar esta variação de frequências gênicas encontradas nestas populações.



8 - SUMMARY

The frequency of the opaque-2 gene was determined in 16 maize populations, formed by 5 indigenous varieties, 10 commercial varieties and one Broad Composite, pertaining to the Germoplasm Bank of the Instituto de Genética of the ESALQ. The population Maya-opaque-2 which is homozygous recessive to this gene, was used as a tester and crossed with the populations previously detasseled, in a allelism test. The detection of the heterozygous ears in the population were done using the chi-square test adapted to the expected frequency of a 1:1 ratio.

Ten populations, being 4 indigenous, 5 commercials and the Broad Composite, showed genic frequencies for the opaque-2 gene varying from 34,46% to 0,07%. An attempt to explain the genic frequency variation found in these populations is presented.

9 - LITERATURA CITADA

- 1 - ALEXANDER, D.E. - Problems associated with breeding opaque-2 corns, and some proposed solutions. *Proc. High Lysine Corn Conf.*, Corn Industries Research Foundations, Washington, 1966. p. 143-7.
- 2 - ———; DUDLEY, J.W.; LAMBERT, R.J. The Modification of protein quality of maize by breeding, In: MEETING MAIZE SORGHUM EUCARPIA, 5th, Budapest, 1971. *Proceedings*. Budapest, 1971. p. 33-43.
- 3 - ———; LAMBERT, R.J; DUDLEY, J.W. - Breeding problems and potentials of modified protein maize. In: PANEL MEETING ON NEW APPROACHES TO BREEDING FOR PLANT PROTEIN IMPROVEMENT; Rostanga, Eweden, 1968. *Proceedings*. Vienna, IAEA, 1969. p. 56-65.
- 4 - AMORIM, P.J. - O milho opaco-2 na desnutrição protéica da criança e na alimentação complementar do lactente. In: REUNIÃO BRASILEIRA DO MILHO E I SIMPÓSIO SOBRE MILHO OPACO, 7a. Viçosa. 1971. *Anais*. Viçosa, 1971. p-231-49.
- 5 - ÁVILA, G. - Presenza di opaque-2 in popolazioni boliviane di mais. *Genet. Agr.*, Roma, 25(1/2):140-5, 1971.
- 6 - BATES, L.S. - Amino acid analysis. *Proc. high Lysine Corn Conf.*, Corn Industries Research Foundation, Washington, 1966. p.61-6.
- 7 - BIANCHI, A.; BORCHI, B.; LORENZONI, C.; POZZI, M.; SALAMINI, F. - Mendelian characters in Italian maize. *Maize Gen, Coop. News Letter*, Bloomington, In. 38:89-91. 1964
- 8 - BRESSANI, R.- Protein quality of opaque-2 maize in children. *Proc. High Lysine Corn Conf.* Corn Industries Research Foundation, Washington, 1966. p.34-9.

- 9 - CABULEA, I & ZETEA, F. - Sul determinismo genético di alcuni caratteri biochimici delle cariossidi di mais. *Genet. Agr. Roma*, 26(1-2):36-61, 1972.
- 10 - CAMPOS, F.A.M. & NOGUEIRA, C.C. - Algumas indagações experimentais sobre o valor alimentar do milho. *Bras.Med.*, Rio de Janeiro, 58(1/3):1-32. 1944.
- 11 - CLARK, H.E. - Opaque-2 corn as a source of protein for adult human subjects. *Proc. High Lysine Corn Conf.*, Corn Industries Research Fundation, Washington, 1966. p.40-4.
- 12 - COSTA, P.M.; MELLO, H.V.; MAYROSE, V.B.; PACHECO, L.; PATO, J.M. - Valor nutritivo do milho opaco-2 para suínos. *Rev. Ceres*, Viçosa, 28(95):1-22, 1971.
- 13 - CPC International INC. - High lysine corn in human nutrition. Waltham, Mass. 1971. 15p.
- 14 - CROMWELL, G.L.; PICKETT, R.A.; BEESON, W.M. - Nutritional value opaque-2 corn for swine. *J. Anim. Sci.*, Menasha, 26(6):1325-31, 1967.
- 15 - DRUMOND, G.A. - Desenvolvimento do milho opaco na Agroceres. In: REUNIÃO BRASILEIRA DO MILHO E I SIMPÓSIO SOBRE MILHO OPACO, 7a., Viçosa, 1971. *Anais.Viçosa*, 1971.p. 184-95.
- 16 - ——— - Híbridos de milho opaco-2. In: REUNIÃO BRASILEIRA DO MILHO, 9a., Recife, 1972. *Anais. Recife*, 1972. p. 273-84.
- 17 - DUVICK, D.N. - Cytoplasmic inclusions of the developing and nature maize endosperm. *Am. J. Bot.*, Lancaster, Pa. 42(8):717-25, 1955.

- 18 - EAST, E.M. & JONES, D.F. - Genetics studies on the protein content of maize. *Genetics*, Princeton. 5:543-610, 1920.
- 19 - EDWARDSON, J.R. - The restoration of fertility to cytoplasmic male-sterile corn. *Agron. J.*, Whashington, 47 (10):457-61. 1955.
- 20 - EMERSON, R.A.; BEADLE, A.W; FRASER, A.C. - A summary of linkage studies in maize. *Cornell Univ. Agr. Exp. St. Mem.*, Ithaca, (180), 1935. 83p.
- 21 - FALCONER, D.S. - Introduction to quantitative genetics. London, Oliver and Boyd, 1960. 365p.
- 22 - FAO - El problema mundial de los alimentos em relacion con el comercio y el desarrollo. *Bol. Mens. Ecom. Est. Agr.* Rome, 17(5):1-13. 1970.
- 23 - FEIST, W.A. & LAMBERT, R.J. - Changes in six different opaque-2 genotypes of *Zea mays*, L. during sucessive generations of backcrossing. *Crop. Sci.* Madison, Wisw. 10(6):663-5, 1970.
- 24 - FONSECA, J.B. - Evaluation of the protein quality of selected varieties of corn and sorghum for poultry. Indiana, 1970. {Thesis (Ph,D)-Purdue Univ.}
- 25 - FREY, K.J. - The inheritance of protein and certain of its components in maize. *Agron. J.*, Washington, 41(3): 113-7, 1949.
- 26 - ———; BRIMHALL, B.; SPRAGUE, G.G. - The effects of selection upon protein quality in the corn kernel. *Agron. J.* Washington, 41(9):399-403, 1949a.
- 27 - GONZALEZ, J.R.T. - Frequências de genes restauradores da fertilidade em várias raças e variedades de milho (*Zea mays* L.) Piracicaba, 1971. 45p. {Dissertação (Mestre). ESALQ.}

- 28 - GRAHAM, J.S.D.; JENNINGS, A.C.; MORTON, R.K.; PALK, B.A.;
RAISON, J.K. - Protein bodies and protein synthesis
in developing wheat endosperm. *Nature*, London, 196(4857):
967-9, 1962.
- 29 - GROGAN, C.O. & FRANCIS, C.A. - Influence of single recessiv
e endosperm mutant on yield and dry matter distribution
in maize (*Zea mays* L.), *Crop Sci.* Madison, Wisc. 11(2):
302-3, 1971.
- 30 - GRUPTA, S.C.; ASNANI, V.L; KHARE, B.P. - Effects of the
opaque-2 gene in maize (*Zea mays* L.) on the extent of
infestation by *Sitophilus orizae* L. *Jul Stored Prod.*
Res. 6(2):191-4, 1970.
- 31 - HALIM, A.H.; WASSON, C.E.; MITCHELL, H.L. Tripsin inhibit
or in corn (*Zea mays* L.) as influenced by genotype
and moisture. *Crop. Sci.*, Madison, Wisc., 13(4): 405-7,
1973.
- 32 - HAYES, H.K. & GARBER, R.J. - Synthetic production of high
protein corn in relation to breeding. *J. Am. Soc. Agron.*,
Washington, 18(8):309-18, 1919.
- 33 - INGLE, J.; BEITZ, D.; HAGEMAN, R.A. - Changes in composit
ion during development and maturation of maize seed.
Pl. Physiol Washington, 40(5):835-9, 1965.
- 34 - JIMENEZ, J.R. - Protein fractionation studies of high
lysine corn. *Proc. Lysine Corn. Conf.*, Corn Industries
Research Foundation, Washington, 1966. p.74-9.
- 35 - KRONKA, R.N. - Utilizaçãõ do milho opaco-2 no crescimento
e engorda de suínos. *BoI. Ind. Anim.*, São Paulo, 25:
197-209, 1968.
- 36 - LAMBERT, R.J. & ALEXANDER, D.E. - Spontaneous mutation rate
at the opaque-2 locus in maize. *J. Hered.* Washington, 59(6):378-9, 1968.

- 37 - LAMBERT, R.J.; ALEXANDER, D.E.; DUDLEY, J.W. Relative performance of normal and modified protein (opaque-2)maize hybrids. *Crop. Sci.* Madison, Wisc. 9(2):242-3, 1969.
- 38 - LANG, A.L.; PENDLENTON, J.W.; DUNGAN, G.H. - Influence of population and nitrogen levels on yield and protein and oil contents of nine corn hybrids. *Agron. J.*, Washington, 48(6):284-9, 1956.
- 39 - LORENZONI, C. & BORGHI, B. - Nitrogen, protein fraction and amino acid content of opaque-2 and normal kernels in F₂ maize with different genetic backgrounds. *Gen.Agr.*, Roma, 23(1/4): 111-4, 1969.
- 40 - ———; MAGGIORE, T.; SCANDURA, M.; SERVELLO, V.; SLAMINI, F. - Effetti del genotipo e dell ambiente sulla qualità del mais opaco-2. *Maydica*. Bergamo, 26(4):101-16, 1971.
- 41 - MAIZE GENETICS COOPERATION. - Recent linkage studies in maize. *Genetics*, Princeton, 24:59-63, 1939.
- 42 - MC WHIRTER, K.S. - A floury endosperm, high lysine locus on chromosome 10. *Maize Genet. Coop. News Lett.* Bloomington, Ind. 45:184. 1971.
- 43 - MERTZ, E.T. - Growth of rats on opaque-2 maize. *Proc. High Lysine Corn Conf.* Corn Industries Research Foundation, Washington, 1966. p.12-8.
- 44 - ———; BATES, L.S.; NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, New York, 145:279-80, 1964.
- 45 - ———; VERON, O.A.; BATES, L.S.; NELSON, O.E. - Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science*, New York, 148: 1741-2, 1965.
- 46 - MILLER, P.A.; HURST, T.L.; BRIMHALL, B. - Relationships of lysine and niacin with the crude protein and certain

protein components in corn grain. *Agron. J.*, Washington, 44(7):343-5, 1952.

- 47 - MITCHELL, H.H.; HAMILTON, T.S.; BEADLES, J.S. - The relationship between the protein content of corn and the nutritional value of the protein. *J. Nut.*, Philadelphia, 48(4):461-76, 1952.
- 48 - MURPHY, J.J. & DALBY, A - Changes in the protein fractions of developing normal and opaque-2 maize endosperm. *Cereal Chem.*, St. Paul, Min., 48(3):336-49, 1971.
- 49 - NASS, H.G. & CRANE, Ph - Effects of endosperm genes on dry matter accumulation and moisture loss corn (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, Madison, Wisc., 10(3):276-80, 1970.
- 50 - NELSON, O.E., - Opaque-2, floury-2 and high protein maize. *Proc. High Lysine Corn Conf.*, Corn Industries Research Foundation, Washington, 1966. p-155-60.
- 51 - NELSON, O.E. - The modification by mutation of the protein quality in maize. In: PANEL MEETING ON NEW APPROACHES TO BREEDING FOR PLANT PROTEIN IMPROVEMENT, Rostanga, Sweden, 1969. *Proceedings*. Viena, IAEA, 1969.p.41-54.
- 52 - ———; MERTZ, E.T.; BATES, L.S. - Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. *Science*, New York, 150:1469-70, 1965.
- 53 - NOLBERGA SH, B. - Metionina, Cistina, Lisina e Triptofano en algunos alimentos venezuelanos. *Arch. Lat. Nut.* 17(2):111-16, 1967.
- 54 - PAEZ. A.V.; HELM, J.L.; ZUBER, M.S. - Lysine content of opaque-2 maize kernels having different phenotypes. *Crop. Sci.*, Madison, Wisc. 9(2):251-2, 1969.

- 55 - PATERNIANI, E. Formação de compostos de milho. In: RELATÓRIO CIENTÍFICO DO INSTITUTO DE GENÉTICA, ESALQ., Piracicaba, 102-8. 1968.
- 56 - ——— - Considerações sobre o milho opaco. In: REUNIÃO BRASILEIRA DO MILHO E I SIMPÓSIO SOBRE MILHO OPACO, 7a. Viçosa, 1971. *Anais*. Viçosa, 1971. p.
- 57 - EL PNDU financia projecto de maiz de alta proteina. *Noticie ro del CIMMYT*, Mexico, 5(1/2):1-4, 1970.
- 58 - PICKETT, R.A. - Opaque-2 corn in swine nutrition. *Proc. High Lysine Corn Conf.*, Corn Industries Research Fundation, Washington, 1966. p.19-22.
- 59 - PIVA, G.; SALAMINI, F.; SANTI, E. - Caratteristiche proteiche e valore alimentare del mais omozigote per l'allele "Opaque-2". isolato de una popolazione italiana. *Aliment. Anim.*, Roma. 10:3-11, 1967.
- 60 - PRINCE, B.A. - Affect of nitrogen fertilization plant spacing and variety on the protein composition of corn. *Agron.J.* Washington, 46(4):185-6, 1954.
- 61 - QUAIST, D.G. - Determinação e estudo da quantidade e qualidade da proteína do grão de milho (*Zea mays* L.). *Pesq. Agrop. Bras.*, Rio de Janeiro, 1:222-32, 1966.
- 62 - QUICKE, G.V. & GEVERS, H.O. - Higher lysine levels and improved protein quality of opaque-2 maize. *S. Afr. Med. J.*, Cape Town, 46:1579-84, 1972.
- 63 - SALAMINI, F.; BORGHI, B.; LORENZONI, C. - The effect of the opaque-2 gene on yield in maize. *Emphytica*, Wagenwgen, 19(4):531-8, 1970.
- 64 - SARAIVA, L.S.; ANDERSON, J.C.; ALMEIDA, F^o, J. - Correlação entre lisina e proteína do milho opaco-2. *Rev. Ceres*. Viçosa, 19(104):227-32. 1972.

- 65 - SODEK, L. - Corn proteins. Boletim didático do Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 1973. p.
- 66 - ———; & WILSON, C.M. - Amino acid composition of protein isolated from normal, opaque-2 and floury-2 corn endosperm by modified Osborne procedure. *J. Agr. Food.Chem.* 19(6):1144-50, 1971.
- 67 - TAFURI, M.L.; CAMPOS, J.; SILVA, J.S.; SILVA, M.S. - Efeito do milho opaco-2 sobre produção de ovos e coloração de gemas. *Rev. Ceres*, Viçosa, 10(95):33-49, 1971.
- 68 - WELLHAUSEN, E.L. - Opaque-2 and Latin American. *Proc. High Lysine Corn Conf.*, Corn Industries Research Foundation, Washington, 1966.p.50-1.
- 69 - WOODWORTH, C.E.; LENG, E.R.; JUGENHEIMER, R.W. - Fifty generations of selection for protein and oil in corn. *Agron. J.*, Washington, 44(2):60-5, 1952.
- 70 - ZUBER, S.M.; SMITH, G.C.; GEHRKE, C.W. - Crude protein of corn grain and stover as influenced by different hybrids, plant population and nitrogen levels. *Agron. J.*, Washington, 46(6):257-61, 1954.

Tabela 1 - Percentagens entre as classes populacionais, de espigas segregando grãos opacos e normais, considerando-se o tipo de grão. Piracicaba, 1973.

Classe Populacional	Tipo de grão	P O P U L A Ç Õ E S		
		Apresentando segregação		TOTAL
		Nº	%	
Indígena	amiláceo	4	100	4
	translúcido	0	0	1
Comercial	translúcido	5	50	10
Composto	translúcido	1	100	1



Tabela 2 - Número de espigas normais, completamente opacos e segregando grãos normais e opacos (1:1) em todas as populações estudadas e suas percentagens. Piracicaba, 1973.

POPULAÇÕES	Espigas normais (++/+)		Espigas segregando 1:1 (++/02)		Espigas opacos (0202/02)		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Lenha	285	45,16	188 + 69	29,79 + 10,93	89	14,10	631
Entrelaçado	216	75,00	46 + 19	15,97 + 6,59	7	2,43	288
Guarani Composto	438	57,32	216 + 47	28,27 + 6,15	63	8,24	764
Indígena Composto	662	60,40	281 + 87	25,63 + 7,93	66	6,02	1.096
Pipoca Indígena	837	100	-	-	-	-	837
Centralmex	1.233	98,32	12 + 9	0,95 + 0,71	-	-	1.254
Dentado Composto	1.374	98,35	8 + 15	0,57 + 1,07	-	-	1.397
Flint Composto	1.314	99,84	1 + 1	0,07 + 0,07	-	-	1.316
Cateto Colombia Composto	920	100	-	-	-	-	920
Cateto Composto	1.408	100	-	-	-	-	1.408
Dente Paulista	1.236	98,32	7 + 14	0,55 + 1,11	-	-	1.257
Canário de Ocho Composto	760	100	-	-	-	-	760
Cateto Composto Urug. Arg.	1.194	100	-	-	-	-	1.194
Dente Cravo Composto	1.005	98,33	10 + 7	0,97 + 0,68	-	-	1.022
Pipoca Comercial	378	100	-	-	-	-	378
Composto Amplo	1.109	97,45	14 + 15	1,23 + 1,31	-	-	1.138
Total	14.369	91,75	783 + 283	5,00 + 1,80	225	1,43	15.660

Tabela 3 - Número de espigas segregando grãos opacos e normais, considerando sua significância no teste qui-quadrado à proporção esperada (1:1) e seu percentual em cada população. Piracicaba, 1973

Populações	Espigas significativas		Espigas não-significativas		Total
	Nº	%	Nº	%	
<u>Indígenas:</u>					
Lenha	69	26,84	188	73,16	257
Entrelaçado	19	29,24	46	70,76	65
Guarani Composto	47	17,88	216	82,12	263
Indígena Composto	87	23,64	281	76,36	368
Sub-total	222	23,69	731	76,71	953
<u>Comerciais:</u>					
Centralmex	9	42,86	12	57,14	21
Dentado Composto	15	65,22	8	34,78	23
Flint Composto	1	50,00	1	50,00	2
Dente Paulista Mole	14	66,66	7	33,33	21
Dente Cravo Composto	7	41,18	10	58,82	17
Sub-total	46	54,77	38	45,23	84
<u>Composta:</u>					
Composto Amplo	15	51,72	14	48,28	29
Total	283	26,54	783	73,46	1.066

Tabela 4 - Número de espigas significativas em cada população, considerando-se a quantidade maior ou menor de grãos opacos ou normais. Piracicaba, 1973.

Populações	grãos opacos		grãos translúcidos		Total
	Nº	%	Nº	%	
<u>Indígenas:</u>					
Lenha	37	53,62	32	46,38	69
Entrelaçado	2	10,52	17	89,48	19
Guarani Composto	28	59,57	19	40,43	47
Indígena Composto	54	62,06	33	37,94	87
Total	121	54,50	101	45,50	222
<u>Comerciais:</u>					
Centralmex	0	0,00	9	100,00	9
Dentado Composto	3	20,00	12	80,00	15
Flint Composto	0	0,00	1	100,00	1
Dente Paulista Mole	0	0,00	14	100,00	14
Dente Cravo Composto	0	0,00	7	100,00	7
Total	3	6,52	43	93,48	46
<u>Composto:</u>					
Composto Amplo	2	15,38	13	86,67	15

Tabela 5 - Teste de homogeneidade para o total de espigas segregantes em cada população. Piracicaba, 1973.

Populações	OBSERVADO		Total	Esperado	x ²
	Opacos	Normais			
<u>Indígenas:</u>					
Lenha	45.792	45.686	91.478	45.739,0	0,0614
Entrelaçado	4.114	4.624	8.738	4.369,0	14,8832*
Guarani Composto	32.084	31.086	63.170	31.585,0	7,8837*
Indígena Composto	44.830	42.654	87.484	43.742,0	27,0619*
<u>Comerciais:</u>					
Centralmex	2.032	3.041	5.073	2.536,5	100,3430*
Dentado Composto	3.217	4.804	8.021	4.010,5	156,9984*
Flint Composto	124	191	315	159,5	7,9012*
Dente Paulista Mole	2.622	4.429	7.051	3.525,5	231,5450*
Dente Cravo Composto	3.041	4.137	7.178	3.589,0	83,6734*
Composto	4.012	5.257	9.269	4.634,5	83,6133

Tabela 6 - Teste de homogeneidade considerando apenas as espigas se gregando grãos opacos e normais não significativos, em cada população. Piracicaba, 1973.

Populações	OBSERVADO		Total	Esperado	χ^2
	Opacos	Normais			

Indígenas:

Lenha	32.231	31.603	63.834	31.917,0	3,0891
Entrelaçado	3.133	3.302	6.435	3.217,5	2,2191
Guarani Composto	25.062	25.249	50.311	25.155,5	0,3475
Indígena Composto	31.249	31.288	62.537	31.268,5	0,0121

Comerciais:

Centralmex	1.298	1.556	2.854	1.427,0	11,6615*
Dentado Composto	1.281	1.401	2.682	1.341,0	2,6845
Dente Paulista Mole	1.136	1.281	2.281	1.208,5	4,3494*
Dente Cravo Composto	1.983	2.159	4.142	2.071,0	3,7392

Composta:

Composto Amplo	2.053	2.132	4.185	2.092,5	0,7456
----------------	-------	-------	-------	---------	--------

* Significativo ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Tabela 7 - Distribuição do número de espigas segregando grãos opacos e normais nas 10 populações, considerando-se a frequência de grãos opacos nas espigas.

Populações	Frequência de grãos opacos (%)									
	100	90-80	80-70	70-60	60-50	50-40	40-30	30-20	20-10	0
Lenha	89	1	4	26	99	97	21	8	1	285
Entrelaçado	7	1	1	-	13	32	15	3	-	216
Guarani Composto	63	1	4	20	111	106	18	3	-	438
Indígena Composto	66	-	10	35	151	121	47	3	1	662
Centralmex	-	-	-	-	2	9	9	1	-	1.233
Dentado Composto	-	-	-	3	4	5	7	2	2	1.374
Flint Composto	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1.314
Dente Paulista	-	-	-	-	1	7	7	6	-	1.236
Dente Cravo Composto	-	-	-	-	2	10	4	1	-	1.005
Composto Amplo	-	-	1	1	6	10	8	3	-	1.109

Tabela 8 - Equilíbrio de Hardy-Weinberg nas populações, através da adaptação do número de plantas observadas e esperadas, ao teste qui-quadrado. Piracicaba, 1973.

Populações			GENÓTIPOS		
			+/+	+/o2	o2/o2
Lenha	Obs.	Freq.	0,451	0,407	0,141
		Plantas	285	257	89
	Esp.	Freq.	0,427	0,452	0,119
		Plantas	269,43	285,21	75,08
	χ^2		1,0000 ns	2,7902 ns	2,5807 ns
Entrelaçado	Obs.	Freq.	0,750	0,225	0,024
		Plantas	216	65	7
	Esp.	Freq.	0,743	0,237	0,019
		Plantas	215,98	68,25	5,47
	χ^2		0,0190 ns	0,1547 ns	0,4279 ns
Guarani Composto	Obs.	Freq.	0,573	0,344	0,082
		Plantas	438	263	63
	Esp.	Freq.	0,555	0,379	0,065
		Plantas	424,02	289,55	49,66
	χ^2		0,4609 ns	2,4344 ns	3,5834 ns
Indígena Comp.	Obs.	Freq.	0,604	0,335	0,060
		Plantas	662	368	66
	Esp.	Freq.	0,594	0,353	0,052
		Plantas	651,02	386,88	56,99
	χ^2		0,1851 ns	0,9213 ns	1,4244 ns

Tabela 9 - Frequência de genes opaco-2 nas 16 variedades de milho, considerando-se o número total de espigas segregantes como heterozigóticos e somente as não significativas como heterozigóticos. Piracicaba, 1973.

Populações	Total de espigas segregantes			Espigas heterozigóticas comprovadas		
	1/2 H	P	p	1/2 H	P	p
Lenha	20,36	14,10	34,46	16,72	15,83	32,55
Entrelaçado	11,28	2,43	13,71	8,55	2,60	11,15
Guarani Composto	17,21	8,24	25,45	15,06	8,78	23,84
Indígena Composto	16,78	6,02	22,80	13,92	6,54	20,46
Pipoca Indígena						
Centralmex	0,83	0	0,83	0,48	0	0,48
Dentado Composto	0,82	0	0,82	0,28	0	0,28
Flint Composto	0,07	0	0,07	0,03	0	0,03
Cateto Colombia Composto	0	0	0			
Cateto Composto	0	0	0			
Dente Paulista	0,83	0	0,83	0,28	0	0,28
Canário de Ocho Composto	0	0	0			
Cateto Composto Urug. Arg.	0	0	0			
Dente Cravo Composto	0,83	0	0,83	0,49	0	0,49
Pipoca Comercial	0	0				
Composto Amplo	1,27	0	1,27	0,62	0	0,62



11 - ANEXOS

Anexo 1 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa_{co-2}, na população Lenha. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
391	141	532	266,0	58,7406*
120	348	468	234,0	55,5384*
303	106	409	204,5	47,4437*
153	376	529	264,5	47,0028*
70	239	309	154,5	46,2152*
113	289	402	201,0	38,5273*
156	36	192	96,0	37,5000*
248	92	340	110,0	35,7882*
294	124	418	209,0	34,5693*
88	229	317	158,5	31,3580*
390	214	604	302,0	25,6423*
125	263	388	194,0	24,5412*
265	446	711	355,5	23,0386*
307	162	469	234,5	22,4147*
301	158	459	229,5	22,2755*
269	438	707	353,5	20,1987*
312	176	488	244,0	18,9508*
213	355	568	284,0	17,7500*
112	220	332	166,0	17,5662*
152	127	279	109,5	16,4954*
303	459	762	381,0	15,9685*
55	132	187	93,5	15,8529*
192	319	511	255,5	15,7818*
177	293	470	235,0	14,3148*
153	262	415	207,5	14,3144*
343	219	562	281,0	13,6797*
151	73	224	112,0	13,5803*

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
73	151	224	112,0	13,5803*
223	126	349	174,5	13,4799*
312	197	509	254,5	12,9911*
265	163	428	214,0	12,1542*
247	149	396	198,0	12,1262*
227	343	570	285,0	11,8035*
250	153	403	201,5	11,6736*
330	217	547	273,5	11,6718*
333	220	553	276,5	11,5452*
192	297	489	244,5	11,2730*
227	137	364	182,0	11,1263*
207	126	333	166,5	9,8513*
263	174	437	218,5	9,0629*
237	155	392	196,0	8,5765*
241	160	401	200,5	8,1807*
75	133	208	104,0	8,0865*
228	150	378	189,0	8,0476*
125	70	195	97,5	7,7564*
123	193	316	158,0	7,7531*
217	143	360	180,0	7,6055*
254	177	431	215,5	6,8781*
109	171	280	140,0	6,8642*
178	255	433	216,5	6,8464*
268	189	457	228,5	6,8282*
35	73	108	54,0	6,6851*
247	173	420	210,0	6,5190*
221	304	525	262,5	6,5009*
201	280	481	240,5	6,4875*
139	205	344	172,0	6,3313*
150	97	247	123,5	5,6862*
252	182	434	217,0	5,6451*
183	125	308	154,0	5,4610*

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observado		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
56	103	259	129,5	5,4227*
128	186	314	157,0	5,3566*
125	253	388	194,0	5,3000*
94	56	150	75,0	4,8133*
135	191	326	163,0	4,8098*
238	175	413	206,5	4,8050*
149	207	356	178,0	4,7247*
254	328	582	291,0	4,7044*
181	128	309	154,5	4,5453*
251	322	573	286,5	4,3987*
312	247	559	279,5	3,7790
45	75	120	60,0	3,7500
224	170	394	197,0	3,7005
65	38	103	51,5	3,5388
307	245	552	276,0	3,4818
46	58	99,00	45,5	3,4341
252	314	566	283,0	3,3957
47	25	72	36,0	3,3611
152	200	352	176,0	3,2727
212	268	480	240,0	3,2666
215	153	368	184,0	3,2228
169	219	388	194,0	3,2216
255	301	556	228,0	3,1973
192	146	338	169,0	3,1301
143	183	329	164,5	2,8100
132	144	276	138,0	2,8100
142	105	247	123,5	2,7712
258	208	466	233,0	2,6824
163	124	287	143,5	2,6498
26	45	71	35,5	2,5422
46	70	116	58,0	2,4828
211	168	379	189,5	2,4393

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
263	315	578	289,0	2,3391
315	265	580	290,0	2,1552
127	162	289	144,5	2,1194
191	153	344	172,0	2,0988
227	186	413	206,5	2,0351
51	73	124	62,0	1,9516
196	159	355	177,5	1,9281
193	233	246	213,0	1,8779
29	16	45	22,5	1,8777
172	138	310	155,0	1,8645
257	216	473	236,5	1,7769
126	98	224	112,0	1,7500
235	197	432	216,0	1,6712
31	47	78	39,0	1,6410
217	181	398	199,0	1,6281
222	261	483	241,5	1,5745
49	68	117	58,50	1,5427
260	301	561	280,5	1,4982
77	100	177	88,50	1,4944
181	215	396	198,0	1,4595
113	89	202	101,0	1,4257
276	238	514	257,0	1,4046
102	127	229	114,5	1,3646
153	183	336	168,0	1,3392
162	192	354	177,0	1,2711
241	276	517	258,5	1,1847
148	123	271	135,5	1,1531
173	147	320	160,0	1,0562
258	292	550	275,0	1,0509
203	233	436	218,0	1,0321
110	132	242	121,0	1,0000
145	170	315	157,5	0,9920

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
73	91	164	82,0	0,9878
316	282	598	299,0	0,9666
138	162	300	150,0	0,9600
111	92	203	101,5	0,8891
234	263	497	248,5	0,8460
157	135	292	146,0	0,8287
209	236	445	222,5	0,8191
71	87	158	79,0	0,8101
137	117	254	127,0	0,7874
143	123	266	133,0	0,7519
112	131	243	121,5	0,7427
145	166	311	155,5	0,7090
96	113	209	104,5	0,6914
271	298	569	284,5	0,6405
210	188	398	199,0	0,6080
67	80	147	73,5	0,5748
79	93	172	86,0	0,5698
92	107	199	99,5	0,5653
248	272	520	260,0	0,5538
297	323	620	310,0	0,5452
149	132	281	140,5	0,5142
81	94	175	87,5	0,4829
202	183	385	192,5	0,4688
71	83	154	77,0	0,4675
61	72	133	66,5	0,4548
213	233	446	223,0	0,4484
92	105	197	98,5	0,4289
111	125	236	118,0	0,4153
257	278	535,5	267,5	0,4121
217	236	453	226,5	0,3984
315	293	608	304,0	0,3980
28	35	63	31,5	0,3888

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observado		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
72	62	134	67,0	0,3731
289	296	585	299,5	0,3681
143	129	272	136,0	0,3603
298	319	617	308,5	0,3573
153	168	321	160,5	0,3504
157	172	329	164,5	0,3419
336	315	651	325,5	0,3387
181	166	347	173,5	0,3242
127	140	267	135,5	0,3165
332	312	644	322,0	0,3106
305	285	591	295,5	0,3054
275	257	532	266,0	0,3045
281	263	544	272,0	0,2978
256	239	495	247,5	0,2919
143	156	299	149,5	0,2826
222	238	460	230,0	0,2783
20	25	45	22,5	0,2777
283	301	584	292,0	0,2774
41	48	89	44,5	0,2752
247	231	478	239,0	0,2677
13	17	30	15,0	0,2666
203	189	392	196,0	0,2500
117	128	245	122,5	0,2469
129	118	247	123,5	0,2449
246	231	477	238,5	0,2358
149	161	310	155,0	0,2323
68	76	144	72,0	0,2222
79	71	150	75,0	0,2132
193	206	399	199,5	0,2117
115	125	240	120,0	0,2083
214	201	415	207,5	0,2036
251	237	488	244,0	0,2008

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
147	158	305	152,5	0,1983
59	66	125	62,5	0,1900
116	107	223	111,5	0,1816
282	268	550	275,0	0,1781
209	197	406	203,0	0,1773
66	73	139	69,5	0,1762
179	168	347	173,5	0,1743
88	96	184	92,0	0,1739
121	112	233	116,5	0,1738
292	306	298	299,0	0,1639
217	206	423	211,5	0,1430
258	246	504	252,0	0,1428
189	199	388	194,0	0,1289
131	123	254	127,0	0,1259
33	125	258	129,0	0,1240
72	78	150	75,0	0,1200
113	106	219	109,5	0,1118
118	111	229	114,5	0,1070
120	113	233	116,5	0,1051
87	93	180	90,0	0,1000
159	167	326	163,0	0,0981
268	258	526	263,0	0,0950
328	339	667	333,5	0,0907
136	143	279	139,5	0,0878
241	232	473	236,5	0,0865
139	146	285	142,5	0,0859
146	139	285	142,5	0,0859
80	76	157	78,5	0,0796
159	166	325	162,5	0,0753
123	117	240	120,0	0,0750
168	175	343	171,5	0,0714
91	86	177	88,5	0,0706

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
231	223	454	227,0	0,0704
191	184	375	187,5	0,0653
269	277	546	273,0	0,0586
283	275	558	279,0	0,0573
158	117	275	137,5	0,0563
120	115	235	117,5	0,0531
176	170	346	173,0	0,0520
80	76	156	78,0	0,0513
182	188	370	185,0	0,0486
290	283	573	286,5	0,0427
219	213	432	216,0	0,0416
121	117	238	119,0	0,0336
270	276	546	273,0	0,0329
78	83	161	80,5	0,0311
203	198	401	200,5	0,0311
132	128	260	130,0	0,0307
78	81	159	79,5	0,0283
174	178	352	176,0	0,0227
233	238	471	235,5	0,0265
332	327	659	329,5	0,0189
16	17	33	16,5	0,0151
71	69	140	70,0	0,0142
293	289	582	291,0	0,0137
172	169	341	170,5	0,0131
179	176	355	177,5	0,0126
218	221	439	219,5	0,0102
76	63	139	69,5	0,0079
288	285	573	286,5	0,0078
162	160	322	161,0	0,0062
52	51	103	51,5	0,0049
212	210	422	211,0	0,0047
241	243	484	242,0	0,0041

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
117	116	233	116,5	0,0021
135	134	269	134,5	0,0018
161	162	323	161,5	0,0015
191	190	381	190,5	0,0013
160	160	320	160,0	0,0000
157	157	314	157,0	0,0000

* Significativos ao nível de 5%.

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 2 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa
co - 2 na população Entrelaçado. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
79	183	262	131,0	20,6412*
79	19	98	49,0	18,3675*
95	34	129	64,5	14,4224*
25	78	103	51,5	13,6359*
61	127	188	94,0	11,5851*
55	118	173	86,5	11,4710*
45	101	146	73,0	10,7393*
41	86	127	63,5	7,9724*
81	138	219	109,5	7,4178*
97	156	253	126,5	6,8794*
43	82	125	62,5	6,0840*
50	91	141	70,5	5,9609*
14	39	53	26,5	5,8962*
50	101	161	80,5	5,2204*
15	38	53	26,5	4,9900*
47	86	130	65,0	4,9800*
23	49	72	36,0	4,6944*
35	65	100	50,0	4,5000*
49	83	132	66,0	4,3700*
21	35	56	28,0	1,7500
44	62	106	53,0	1,5283
123	150	273	135,5	1,3351
57	75	132	66,0	1,2272
42	57	99	49,5	1,1363
39	27	66	33,0	1,0909
119	98	217	108,5	1,0161

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
48	63	111	55,5	1,0135
25	35	60	30,0	0,8333
102	121	223	111,5	0,8094
17	25	42	21,0	0,7619
108	91	199	99,5	0,7261
19	27	46	23,0	0,6956
66	80	146	73,0	0,6712
67	81	148	74,0	0,6621
21	29	50	25,0	0,6400
46	36	82	41,0	0,6097
98	113	211	105,5	0,5331
17	23	40	20,0	0,4500
77	89	166	83,0	0,4337
127	113	240	120,0	0,4083
137	152	289	144,5	0,3892
91	80	171	85,5	0,3538
53	62	115	37,5	0,3521
66	61	131	65	0,3091
49	57	106	53	0,3018
45	38	83	41,5	0,3012
38	45	83	41,5	0,2951
101	112	213	106,5	0,2840
63	71	134	67,0	0,2388
65	73	138	69,0	0,2318
43	37	80	40,0	0,2250
28	33	61	30,5	0,2049
33	38	71	35,5	0,1760
95	103	198	99,0	0,1616
103	108	211	105,5	0,0592
66	72	138	69,0	0,0434
26	28	54	27,0	0,0370
68	71	139	69,5	0,0323

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
124	127	251	125,5	0,0179
98	117	215	107,5	0,0883
50	49	99	49,5	0,0050
53	54	107	53,5	0,0046
62	61	123	61,5	0,0040
103	102	205	102,5	0,0024
83	83	166	83,0	0,0000

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 3 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa
co - 2, na população Guarani Composto. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
178	38	216	108,0	45,3703*
195	54	249	124,5	39,9216*
263	116	379	189,5	28,5079*
67	186	253	126,5	27,9861*
212	386	598	299,0	25,3143*
102	223	325	162,5	22,5246*
254	133	387	193,5	18,9160*
196	76	245	122,5	17,6510*
196	99	295	147,5	15,9474*
155	71	226	113,0	15,6106*
123	227	350	175,0	15,4514*
193	318	511	255,5	15,2886*
170	83	253	126,5	14,9524*
218	118	336	168,0	14,8809*
176	293	469	234,5	14,5938*
74	154	228	114,0	14,0350*
58	128	186	93,0	13,1720*
179	95	274	137,0	12,8759*
93	36	129	64,5	12,5930*
240	142	382	191,0	12,5700*
23	71	94	47,0	12,2553*
228	136	364	182,0	11,6263*
19	62	81	40,5	11,4135*
240	153	393	196,5	9,6297*
58	114	172	86,0	9,1162*
150	85	235	117,5	8,9893*
85	150	235	117,5	8,9893*
136	211	347	173,5	8,1051*

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
287	201	488	244,0	7,5778*
89	147	236	118,0	7,1271*
95	154	249	124,5	6,9899*
103	56	159	79,5	6,9465*
51	20	71	35,5	6,7676*
170	109	279	139,5	6,6684*
42	15	57	28,5	6,3947*
100	157	257	128,5	6,3210*
124	76	200	100,0	5,7600*
154	100	254	127,0	5,7401*
164	109	273	136,5	5,5402*
119	176	295	147,5	5,5067*
233	168	401	200,5	5,2680*
239	174	413	206,5	5,1150*
182	128	310	155,0	4,7032*
252	325	577	288,5	4,6178*
145	99	244	122,0	4,3360*
100	63	163	81,5	4,1993*
119	168	287	143,5	4,1829*
82	121	203	101,5	3,7463
168	122	290	145,0	3,6482
152	109	261	130,5	3,5421
168	123	291	145,5	3,4793
97	137	234	117,0	3,4188
59	71	150	75,0	3,4133
167	218	385	192,5	3,3779
123	167	290	145,0	3,3379
107	148	255	127,5	3,2960
129	91	220	110,0	3,2818
201	154	355	177,5	3,1112
142	186	328	164,0	2,9512
44	24	68	34,0	2,9411

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
83	117	200	100,0	2,8900
113	149	262	132,0	2,7348
141	105	246	123,0	2,6341
133	173	306	153,0	2,6143
103	138	241	120,5	2,5414
98	132	230	115,0	2,5130
116	152	268	134,0	2,4179
45	68	113	56,5	2,3407
116	86	202	101,0	2,2277
221	267	488	244,0	2,1680
128	97	225	112,5	2,1355
180	143	323	161,5	2,1191
129	98	227	113,5	2,1160
34	53	87	43,5	2,0747
212	256	468	234,0	2,0683
125	95	220	110,5	2,0454
114	86	200	100,0	1,9600
108	138	246	123,0	1,9453
117	89	206	103,0	1,9029
79	57	136	68,0	1,7794
125	97	222	111,0	1,7657
37	55	92	46,0	1,7608
121	152	273	136,5	1,7600
151	185	336	168,0	1,7202
73	97	170	85,0	1,6941
105	133	238	119,0	1,6470
203	241	444	222,0	1,6261
209	247	456	228,0	1,5833
139	111	250	125,0	1,5680
159	129	288	144,0	1,5625
152	123	275	137,5	1,5290
173	142	315	157,5	1,5253

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
122	150	272	136,0	1,4411
153	125	278	139,0	1,4100
117	93	210	105,0	1,3714
63	83	146	73,0	1,3698
72	93	165	82,5	1,3363
56	40	96	48,0	1,3333
87	67	154	77,0	1,2987
18	29	47	23,5	1,2872
181	152	333	166,5	1,2627
94	117	211	105,5	1,2535
25	15	40	20,0	1,2500
143	171	314	157,0	1,2484
128	104	232	116,0	1,2413
131	107	238	119,0	1,2100
81	63	144	72,0	1,1250
149	176	325	162,5	1,1215
132	109	241	120,5	1,0975
180	153	333	166,5	1,0945
122	146	268	134,0	1,0746
39	53	92	46,0	1,0652
103	125	228	114,0	1,0614
312	349	661	330,5	1,0355
84	67	151	75,5	0,9569
59	75	134	67,0	0,9552
17	26	43	21,5	0,9418
107	128	235	117,5	0,9382
107	88	195	97,5	0,9256
99	119	218	109,0	0,9174
99	119	218	190,0	0,9174
83	101	184	92,0	0,8804
93	112	205	102,5	0,8804
149	127	276	138,0	0,8768

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
153	131	284	142,0	0,8521
41	30	71	35,5	0,8521
192	168	360	180,0	0,8000
115	97	212	106,0	0,7641
173	151	324	162,0	0,7469
96	79	175	87,5	0,7410
64	51	115	57,5	0,7347
97	81	178	89,0	0,7491
37	48	85	42,5	0,7117
62	76	138	69,0	0,7101
157	137	294	147,0	0,6802
167	189	356	178,0	0,6797
102	119	221	110,5	0,6538
69	83	152	76,0	0,6447
139	158	297	148,5	0,6077
143	125	268	134,0	0,6044
25	18	43	21,5	0,5697
81	68	149	74,5	0,5671
121	105	226	113,0	0,5663
186	207	393	196,5	0,5610
25	33	58	29,0	0,5517
157	139	296	148,0	0,5472
145	163	308	154,0	0,5259
74	87	161	80,5	0,5248
63	75	138	69,0	0,5217
115	131	246,0	123,0	0,5203
64	53	117	58,5	0,5170
118	103	221	110,5	0,5090
45	36	81	40,5	0,5000
121	137	258	129,0	0,4961
57	68	125	62,5	0,4840
122	29	51	25,5	0,4803

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
132	148	280	140,0	0,4571
117	132	249	124,5	0,4512
17	23	40	20,0	0,4500
136	152	288	144,0	0,4444
41	33	74	37,0	0,4324
177	160	337	168,5	0,4387
125	140	265	132,5	0,4245
201	183	384	192,0	0,4218
197	215	412	206,0	0,3932
60	70	130	65,0	0,3846
47	39	86	43,0	0,3720
214	232	446	223,0	0,3632
171	187	358	179,0	0,3575
251	233	484	242,0	0,3347
97	86	183	91,5	0,3306
315	259	610	305,0	0,3278
109	121	230	115,0	0,3130
109	121	230	115,0	0,3130
271	253	524	262,0	0,3091
62	71	133	66,5	0,3045
78	88	116	83,0	0,3012
224	208	432	216,0	0,2962
128	116	244	122,0	0,2950
19	24	43	21,5	0,2906
34	28	62	31,0	0,2903
213	198	411	205,5	0,2737
118	107	225	112,5	0,2688
125	114	239	119,5	0,2631
82	73	155	77,5	0,2612
147	135	282	141,0	0,2553
45	52	97	48,5	0,2525
45	52	97	48,5	0,2525

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
77	86	163	81,5	0,2484
171	184	355	117,5	0,2380
41	35	76	38,0	0,2368
36	42	78	39,0	0,2307
221	207	428	214,0	0,2289
273	289	562	280,0	0,2277
85	94	179	89,5	0,2262
43	37	80,0	40,0	0,2250
44	38	82	41,0	0,2195
53	60	113	56,5	0,2168
161	173	334	167,0	0,2155
151	117	268	134,0	0,2150
32	27	59	29,5	0,2118
193	206	399	199,5	0,2117
21	17	38	19,0	0,2105
227	241	468	234,0	0,2094
210	197	407	203,5	0,2076
48	42	90	45,0	0,2000
106	97	203	101,5	0,1995
45	51	96	48,0	0,1875
103	112	215	107,5	0,1883
238	251	489,0	244,5	0,1729
143	153	296,0	148,0	0,1689
218	230	448	224,0	0,1607
204	193	397	198,5	0,1523
65	71	136	68,0	0,1323
128	120	248	124,0	0,1290
67	73	140	70,0	0,1285
37	33	70	35,0	0,1142
58	63	121	60,5	0,1033
117	124	241	120,5	0,1016

(continua)

(continuação)				
Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
121	128	249	124,5	0,0983
194	186	380	190,0	0,0842
104	110	214	107,0	0,0841
119	113	232	116,0	0,0775
123	129	252	126,0	0,0714
35	32	67	33,5	0,0671
207	200	407	203,5	0,0601
108	103	211	105,5	0,0592
44	41	85	42,5	0,0529
81	77	158	79,0	0,0506
78	82	160	80,0	0,0500
88	92	180	90,0	0,0444
227	221	448	224,0	0,0401
156	151	307	153,5	0,0400
107	103	210	105,0	0,0380
118	122	240	120,0	0,0333
128	132	260	130,0	0,0307
41	39	80	40,0	0,0250
159	163	322,0	161,0	0,0248
94	91	185	92,5	0,0243
49	51	100	50,0	0,0200
52	50	102	51,0	0,0196
57	55	112	56,0	0,0178
19	18	37	18,5	0,0135
84	82	166	83,0	0,0120
28	29	57	28,5	0,0087
140	138	278	139,0	0,0071
149	147	296	148,0	0,0067
183	185	368	184,0	0,0054
200	198	398	199,0	0,0050
49	50	99	49,5	0,0050
263	261	524	262,0	0,0038

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
70	71	141	70,5	0,0035
118	119	237	118,5	0,0021
137	138	275	137,5	0,0018
147	148	295	147,5	0,0016
134	134	268	134,0	0,0000
138	138	276	138,0	0,0000
56	56	112	56,0	0,0000
123	123	246	123,0	0,0000
115	115	230	115,0	0,0000
167	167	334	167,0	0,0000
63	63	126,0	63,0	0,0000

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 4 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opaco - 2, na população Indígena Composto, Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
160	42	202	101,0	34,4653*
123	79	202	101,0	30,8960*
304	145	449	224,5	28,1525*
182	358	538	269,0	28,1375*
138	234	372	186,0	26,9515*
173	61	234	117,0	26,8034*
248	113	361	180,5	25,6177*
191	357	548	274,0	25,1423*
99	226	325	162,5	24,8138*
182	71	253	126,5	24,7905*
166	63	229	114,5	23,1637*
137	271	408	204,0	22,0049*
228	107	335	167,5	21,8522*
235	112	347	173,5	21,7997*
225	106	331	165,5	21,3912*
172	71	243	121,5	20,9897*
269	141	410	205,0	19,9804*
51	137	188	94,0	19,6702*
90	196	286	143,0	19,6433*
290	159	449	224,5	19,1102*
290	160	450	225,0	18,7777*
69	162	231	115,5	18,7207*
142	260	402	201,0	17,3184*
70	159	229	114,5	17,2947*
130	51	181	90,5	17,2403*
114	41	155	77,5	17,1903*
180	85	265	132,5	17,0283*
215	110	325	162,5	16,9369*

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
93	191	284	142,0	16,9084*
238	127	365	182,5	16,8750*
243	133	376	188,0	16,0904*
112	209	321	160,5	14,6557*
283	169	452	226,0	14,3761*
290	175	465	232,5	14,2204*
169	81	254	127,0	13,8897*
79	160	239	119,5	13,7259*
124	55	179	89,5	13,2988*
89	172	261	130,5	13,1973*
150	74	224	112,0	12,8928*
224	129	353	176,5	12,7832*
97	180	277	138,5	12,4350*
138	234	372	186,0	12,3870*
148	73	221	110,5	12,0475*
72	144	216	108,0	12,0000*
100	180	280	140,0	11,4285*
89	36	125	62,5	11,2360*
92	38	130	65,0	11,2153*
101	44	145	72,5	11,2034*
161	87	248	124,0	11,0403*
163	89	252	126,0	10,8650*
71	71	208	104,0	10,4711*
145	77	222	111,0	10,4144*
63	352	415	207,5	10,0627*
123	204	327	163,5	10,0321*
117	60	177	88,5	9,8454*
96	168	264	132,0	9,8181*
80	145	225	112,5	9,3888*
145	121	266	133,0	9,0619*
181	109	290	145,0	8,9379*
273	184	457	228,5	8,6663*

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
122	66	188	94,0	8,3404*
238	157	395	197,5	8,3050*
77	136	213	106,5	8,1713*
57	22	79	39,5	7,7531*
143	84	227	113,5	7,6674*
100	52	152	76,0	7,5789*
86	42	128	64,0	7,5625*
117	257	434	217,0	7,3732*
59	108	167	83,5	7,1886*
314	266	540	270,0	7,1705*
74	127	201	100,5	6,9875*
273	193	466	233,0	6,8669*
203	136	339	169,5	6,6209*
161	102	263	131,5	6,6178*
177	251	428	214,0	6,3971*
29	63	92	46,0	6,2826*
156	100	256	128,0	6,1250*
123	184	307	153,5	6,0602*
97	149	246	123,0	5,4959*
97	149	246	123,0	5,4959*
168	113	281	140,5	5,3825*
117	172	289	144,5	5,2335*
170	117	287	143,5	4,8937*
221	161	382	191,0	4,7100*
103	152	255	127,5	4,7074*
224	164	388	194,0	4,6391*
155	212	367	183,5	4,4264*
103	67	170	85,0	3,8117
63	98	161	80,5	3,8043
32	58	90	45,0	3,7555
140	98	238	119,0	3,7058
99	141	240	120,0	3,6750

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
250	193	443	221,5	3,6670
25	47	72	36,0	3,3611
191	247	438	219,0	3,5799
111	75	186	93,0	3,4838
67	101	168	84,0	3,4404
37	63	100	50,0	3,3800
25	47	72	36,0	3,3611
31	55	86	43,0	3,3488
123	167	290	145,5	3,3379
97	136	233	116,5	3,2639
143	103	246	123,0	3,2520
17	35	52	26,0	3,1153
15	32	47	23,5	3,0744
18	36	54	27,0	3,0000
148	109	257	128,5	2,9591
121	161	282	141,0	2,8368
287	233	520	260,0	2,8038
104	141	245	122,5	2,7938
119	158	277	138,5	2,7454
69	131	227	113,5	2,6982
14	29	43	21,5	2,6162
73	103	176	88,0	2,5568
203	251	454	227,0	2,5374
45	69	114	57,0	2,5263
160	131	291	141,5	2,4827
27	46	73	36,5	2,4726
27	46	73	36,5	2,4725
47	71	118	59,0	2,4406
32	53	86	42,5	2,4230
125	162	287	143,5	2,3850
80	110	190	95,0	2,3684
69	97	166	83,0	2,3614

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
118	87	205	102,5	2,3439
123	159	282	141,0	2,2978
17	32	49	24,5	2,2959
152	117	269	134,5	2,2769
315	273	588	294,0	2,2731
153	118	271	135,5	2,2601
154	119	273	136,5	2,2435
123	158	281	140,5	2,1797
32	51	83	41,5	2,1746
150	116	266	133,0	2,1729
151	117	268	134,0	2,1567
121	91	212	106,0	2,1226
169	134	303	151,5	2,0214
127	97	224	112,0	2,0089
98	128	226	113,0	1,9911
98	128	226	113,0	1,9911
271	227	498	249,0	1,9437
117	149	266	133,0	1,9248
82	109	191	95,5	1,9083
111	142	253	126,5	1,8992
144	179	323	161,5	1,8962
161	128	289	144,5	1,8840
271	228	499	249,5	1,8527
23	38	61	30,5	1,8442
261	219	480	240,0	1,8375
220	182	402	201,0	1,7960
174	211	385	192,5	1,7779
118	91	209	104,5	1,7440
149	183	332	166,0	1,7409
183	149	332	166,0	1,7409
301	257	558	279,0	1,7347
127	99	226	113,0	1,7345

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
59	81	140,0	70,0	1,7285
18	31	49	24,5	1,7244
43	62	105	52,5	1,7190
109	138	247	123,5	1,7024
157	191	348	174,0	1,6609
13	24	37	18,5	1,6351
46	65	111	55,5	1,6261
112	87	199	99,5	1,5703
14	25	39	19,5	1,5512
89	67	156	78,0	1,5512
181	178	359	198,5	1,5428
182	217	399	199,2	1,5350
142	173	315	157,5	1,5253
154	125	279	139,5	1,5071
111	87	198	99,0	1,4545
173	143	316	158,0	1,4240
164	135	299	149,5	1,4063
89	68	157	78,5	1,4044
57	76	133	66,5	1,3571
183	153	336	168,0	1,3392
112	89	201	100,5	1,3159
112	89	201	100,5	1,3159
117	143	260	130,0	1,3000
103	127	230	115,0	1,2521
23	35	58,0	29,0	1,2413
173	145	318	159,0	1,2327
75	57	132	66,0	1,2272
110	88	198	99,0	1,2222
213	182	395,0	197,5	1,2164
199	231	430	215,0	1,1906
109	133	242	121,0	1,1900
21	32	53	26,5	1,1415

(contínua)

(continuação)

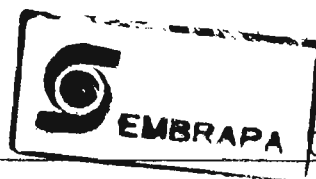
Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
196	227	423	211,5	1,1359
137	163	300	150,0	1,1266
58	43	101	50,5	1,1138
175	203	378	189,0	1,0370
248	281	529	264,5	1,0293
118	97	215	107,5	1,0255
179	153	332	166,0	1,0180
141	166	307	153,5	1,0179
119	98	217	108,5	1,0161
43	57	100	50,0	0,9800
104	85	189	94,5	0,9550
59	45	104	52,0	0,9423
194	168	362	181,0	0,9337
68	53	121	60,5	0,9297
100	120	220,0	110,0	0,9090
40	53	93	46,5	0,9086
28	39	67	33,5	0,9029
103	123	226	113,0	0,8849
149	127	276	138,0	0,8768
224	197	421	210,5	0,8669
209	183	392	196,0	0,8622
48	36	84	42,0	0,8571
154	132	286	143,0	0,8461
118	99	217	108,5	0,8317
52	66	118	59,0	0,8305
102	121	223	111,5	0,8094
95	113	208	104,0	0,7788
141	121	262	131,0	0,7633
97	81	178	89,0	0,7191
138	119	257	128,5	0,7023
147	168	315	157,5	0,7000
26	35	61	30,5	0,6639
50	83	181	90,5	0,6215

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
98	83	181	90,5	0,6215
167	188	355	177,5	0,6211
186	168	355	177,5	0,6148
17	24	41	20,5	0,5975
101	117	218	109,0	0,5871
119	103	222	111,0	0,5765
18	25	43	21,5	0,5697
19	13	32	16,0	0,5625
32	41	73	36,5	0,5547
109	125	231	117,0	0,5470
97	83	180	90,0	0,5440
161	143	304	152,0	0,5328
43	53	96	48,0	0,5208
153	171	324	162,0	0,5000
37	29	66	33,0	0,4848
109	95	204	102,0	0,4803
30	38	68	34,0	0,4705
71	83	154	77,0	0,4675
112	98	210	105,0	0,4666
98	85	183	91,5	0,4617
155	139	294	147,0	0,4353
12	17	29	14,5	0,4310
43	52	95	47,5	0,4263
122	108	230	115,0	0,4260
36	43	79	39,5	0,4152
81	93	174	87,0	0,4137
96	84	180	90,0	0,4000
113	100	213	106,5	0,3967
114	101	215	107,5	0,3930
181	198	379	189,5	0,3812
38	46	84	42,0	0,3809
19	14	33	16,5	0,3787

(continua)



(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
49	58	107	53,5	0,3785
143	158	301	150,5	0,3737
252	233	485	242,5	0,3721
39	47	86	43,0	0,3720
125	139	264	132,0	0,3712
49	41	90	45,0	0,3555
215	198	413	206,5	0,3498
93	82	175	87,5	0,3457
171	156	327	163,5	0,3440
171	156	327	163,5	0,3440
94	83	177	88,5	0,3418
66	57	123	61,5	0,3292
180	165	345	172,5	0,3260
25	31	56	28,0	0,3214
68	59	127	63,5	0,3188
107	119	226	113,0	0,3185
212	196	408	204,0	0,3137
142	129	271	135,5	0,3118
23	18	41	20,5	0,3047
49	57	106	53,0	0,3018
151	138	289	144,5	0,2923
211	227	438	219,0	0,2922
112	101	213	106,5	0,2840
268	251	519	259,5	0,2784
43	50	93	46,5	0,2634
22	27	49	24,5	0,2551
213	228	441	220,5	0,2551
128	117	245	122,5	0,2469
152	140	292	146,0	0,2465
63	71	134	67,0	0,2388
93	84	177	88,5	0,2288
38	44	82	41,0	0,2195

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
113	123	236	118,0	0,2118
103	94	197	98,5	0,2055
84	76	160	80,0	0,2000
98	107	205	102,5	0,1975
61	68	129	64,5	0,1899
221	234	455	227,5	0,1857
129	139	268	134,0	0,1856
70	63	133	66,5	0,1842
91	83	174	87,0	0,1839
14	11	25	12,5	0,1800
134	134	278	139,0	0,1798
93	85	178	89,0	0,1797
65	72	137	68,5	0,1788
71	78	149	74,5	0,1644
130	121	251	125,5	0,1613
123	132	255	127,5	0,1588
83	76	159	79,5	0,1540
137	128	265	132,5	0,1528
193	204	397	198,5	0,1523
39	44	83	41,5	0,1506
105	113	218	109,0	0,1467
117	125	242	121,0	0,1322
16	19	35	17,5	0,1285
73	67	140	70,0	0,1285
91	83	174	87,0	0,1239
78	72	150	75,0	0,1200
54	59	113	56,5	0,1106
181	190	371	185,5	0,1091
79	86	165,0	82,0	0,1090
63	58	121	60,5	0,1033
118	125	243	121,5	0,1003
24	21	45	22,5	0,1000

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
43	39	82	41,0	0,0975
51	42	93	46,5	0,0967
72	67	139	69,5	0,0899
49	45	94	47,0	0,0851
51	47	98	49,0	0,0816
30	27	57	28,5	0,0789
79	84	163	81,5	0,0766
125	119	244	122,5	0,0737
224	232	456	228,0	0,0701
235	227	462	231,0	0,0692
137	131	268	134,0	0,0671
99	94	139	96,5	0,0647
40	37	77	38,5	0,0584
207	214	421	210,5	0,0581
41	37	78	39,0	0,0576
41	38	79	39,5	0,0569
219	212	431	215,5	0,0568
39	42	81	40,5	0,0555
43	40	83	41,5	0,0542
176	170	346	173,0	0,0520
83	79	162	81,0	0,0493
130	125	255	127,5	0,0490
202	196	398	199,0	0,0452
103	99	202	101,0	0,0396
233	227	460	230,0	0,0391
159	164	323	161,5	0,0386
60	57	117	58,5	0,0384
58	61	119	59,5	0,0378
167	172	339	169,5	0,0368
172	160	332	166,0	0,0361
137	141	278	139,0	0,0287
79	82	161	80,5	0,0279

(continua)

(continuação)

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
227	232	459	229,0	0,0272
151	147	298	149,0	0,0268
169	173	342	171,0	0,0233
117	120	237	118,5	0,0189
54	52	106	53,0	0,0188
129	132	261	130,5	0,0172
61	63	124	62,0	0,0161
61	63	124	62,0	0,0161
147	150	297	148,5	0,0151
153	150	303	151,5	0,0148
136	139	275	137,5	0,0134
20	21	41	20,5	0,0121
229	231	460	230,0	0,0043
92	91	183	91,5	0,0027
100	99	199	99,5	0,0025
127	126	253	126,5	0,0019
189	189	378	189,0	0,0000
145	145	290	145,0	0,0000
53	53	106	53,0	0,0000
49	49	98	49,0	0,0000
165	165	330	165,0	0,0000

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% 3,841

Anexo 5 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa
co - 2, na população Centralmex . Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
96	214	310	155,0	22,4580*
74	178	252	126,0	21,4603*
78	175	253	126,5	18,5948*
79	176	255	127,5	18,4490*
66	146	212	106,0	15,0993*
127	220	347	173,5	12,4625*
65	126	191	95,5	9,7409*
58	107	165	82,5	7,2787*
91	143	234	117,5	5,7777*
81	118	199	99,5	3,4396
133	169	302	151,0	2,1456
123	145	268	134,0	0,9029
159	182	341	170,5	0,7756
146	162	308	154,0	0,4155
61	70	131	65,5	0,3091
38	45	83	41,5	0,2951
48	54	102	51,0	0,1734
121	113	234	117,0	0,1367
202	316	518	259,0	0,1254
104	98	202	101,0	0,0891
82	84	166	83,0	0,0120

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo : - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa
co - 2, na população Dentado Composto. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
59	430	489	244,5	140,7372*
48	270	318	159,0	77,4905*
121	310	431	215,5	41,4396*
164	356	520	260,0	35,4461*
100	240	340	170,0	28,8235*
242	104	346	173,0	27,5202*
103	236	339	169,5	26,0899*
76	168	244	122,0	17,3442*
144	64	208	104,0	15,3846*
164	271	435	217,5	13,1596*
116	207	323	161,5	12,8188*
177	97	274	137,0	11,6788*
172	266	438	219,0	10,0867*
137	221	358	179,0	9,8547*
113	163	276	138,0	4,5289*
237	283	520	260,0	2,0346
141	176	317	158,5	1,9321
188	226	414	207,0	1,7439
175	207	382	191,0	1,3404
138	132	270	135,0	0,6666
153	137	290	145,0	0,4413
127	119	246	123,0	0,1300
122	121	243	121,5	0,0205

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 7 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opaco - 2, na população Flínt Composto. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
56	112	168	84,0	9,3333*
68	79	147	73,5	0,4115

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 8 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opaco - 2, na população Dente Paulista. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	X ²
Opacos	Normais			
128	331	459	229,5	44,8899*
99	262	361	180,5	36,7991*
130	307	437	218,5	35,8455*
121	280	401	200,5	31,5224*
89	230	319	159,5	31,1614*
94	226	320	160,0	27,2250*
84	208	292	146,0	26,3287*
80	178	258	124,0	18,6124*
134	230	364	182,0	12,6593*
100	184	284	142,0	12,4225*
68	137	205	102,5	11,6121*
128	203	331	165,5	8,4969*
107	164	271	135,5	5,9944*
144	208	352	176,0	5,8181*
174	217	391	195,5	2,3644
154	183	337	168,5	1,2477
163	189	352	176,0	0,9602
163	139	302	151,0	0,9536
149	173	322	161,0	0,8944
118	139	257	128,5	0,8579
215	241	456	228,0	0,7412

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 9 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa
co - 2, na população Dente Cravo Composto. Piracicaba
1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
144	356	500	250,0	44,9440*
135	306	441	220,5	33,1530*
160	314	474	237,0	25,0168*
215	378	593	296,5	22,4021*
150	250	400	200,0	12,5000*
150	224	374	187,0	7,3208*
104	150	254	127,0	4,1652*
273	341	614	307,0	3,7654
205	248	453	226,5	2,0408
183	223	406	203,0	1,9704
231	198	429	214,5	1,2692
123	137	260	130,0	0,3769
117	130	247	123,5	0,3421
237	253	492	246,0	0,1991
332	348	680	340,0	0,1882
118	110	228	114,0	0,1403
162	171	333	166,5	0,1216

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

Anexo 10 - Determinação de espigas heterozigóticas para o gene opa
co - 2, na população Composto Amplo. Piracicaba 1973.

Nº de grãos observados		Total	Esperado	χ^2
Opacos	Normais			
82	256	338	169,0	44,7869*
217	81	298	149,0	31,0335*
69	156	225	112,5	16,8200*
95	192	287	143,5	16,3919*
166	283	449	224,5	15,2438*
118	219	337	168,5	15,1350*
105	359	464	232,0	14,7801*
41	100	141	70,5	12,3439*
139	70	209	104,5	11,3899*
245	357	602	301,0	10,4186*
81	150	231	115,5	10,3051*
124	202	326	163,0	9,3312*
142	223	365	182,5	8,9876*
201	282	483	241,5	6,7919*
134	195	329	164,5	5,6550*
149	197	346	173,0	3,3294
42	68	110	55,0	3,0727
203	168	371	185,5	1,6509
68	89	157	78,5	1,4044
109	132	241	120,5	1,0975
142	166	308	154,0	0,9350
134	154	288	144,0	0,6944
209	189	398	199,0	0,5025
51	61	112	56,0	0,4464
214	198	412	206,0	0,3106
222	209	431	215,5	0,1960
225	215	440	220,0	0,1136
104	114	222	111,0	0,0810
177	172	349	174,5	0,0358

* Significativos ao nível de 5%

Valor tabelado para 5% = 3,841

